

**Untersuchung zweier Transportvarianten im Hinblick  
auf das Tierwohl bei ökologisch aufgezogenen  
Junghennen**

von Helena Sprafke

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde der  
Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität  
München

**Untersuchung zweier Transportvarianten im Hinblick  
auf das Tierwohl bei ökologisch aufgezogenen  
Junghennen**

von Helena Sprafke  
aus Erfurt

München 2019

Aus dem Veterinärwissenschaftlichen Department der  
Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München

Lehrstuhl für Tierschutz, Verhaltenskunde, Tierhygiene und Tierhaltung

Angefertigt unter der Leitung von: Prof. Dr. Michael H. Erhard

Mitbetreuung durch: PD Dr. Shana Bergmann

**Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität München**

**Dekan:** Univ.-Prof. Dr. Reinhard K. Straubinger, Ph.D.  
**Berichterstatter:** Univ.-Prof. Dr. Dr. Michael H. Erhard  
**Korreferent:** Univ.-Prof. Dr. Rüdiger Korbel

**Tag der Promotion:** 27. Juli 2019



## VORABVERÖFFENTLICHUNG

Vorabveröffentlichung von Teilergebnissen des Projektes im Rahmen eines Tagungsbeitrages:

Sprafke H, Palme R, Reinhard J, Erhard M, Bergmann S (2018). Comparing stress levels and behavior in two lines of layer hens transported with and without break. XVth European Poultry Conference. 17<sup>th</sup> – 21<sup>st</sup> September 2018, Dubrovnik, Croatia. World's Poultry Science Journal, ISBN 978-90-829157-0-9. Abstract ID 466: 224.

*Gewidmet*

*Fredy*

## **Inhaltsverzeichnis**

<b>1</b>	<b>Einleitung.....</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Literaturübersicht.....</b>	<b>3</b>
2.1	Rechtliche Anforderungen an die Jung- und Legehennenhaltung .....	3
2.1.1	Stallungen .....	4
2.1.2	Tiere .....	6
2.1.3	Transport .....	6
2.2	Tierwohl.....	8
2.2.1	Der Parameter Stress .....	8
2.2.2	Mensch-Tier-Beziehung.....	12
<b>3</b>	<b>Tiere, Material und Methoden.....</b>	<b>13</b>
3.1	Projektbeschreibung.....	13
3.2	Tierwohl.....	13
3.2.1	Transport .....	13
3.2.2	Kortikosteron-Monitoring.....	15
3.2.3	Tier-Mensch Beziehung.....	16
3.2.4	Exterieur-Beurteilung.....	16
3.2.5	Körpergewicht.....	19
3.2.6	Temperaturmessung.....	19
3.3	Stallungen und Tiere .....	19
3.4	Statistische Auswertung.....	23
<b>4</b>	<b>Publizierte Studienergebnisse .....</b>	<b>25</b>
<b>5</b>	<b>Erweiterte Diskussion .....</b>	<b>41</b>
<b>6</b>	<b>Zusammenfassung.....</b>	<b>45</b>
<b>7</b>	<b>Summary.....</b>	<b>47</b>
<b>8</b>	<b>Literaturverzeichnis.....</b>	<b>49</b>
<b>9</b>	<b>Anhang .....</b>	<b>55</b>
<b>10</b>	<b>Danksagung .....</b>	<b>63</b>

## Abkürzungsverzeichnis

<b>Abb.</b>	Abbildung
<b>ACTH</b>	Adrenocorticotrophes Hormon
<b>AKB</b>	Außenklimabereich
<b>ARV1</b>	Arbeit- und Lenkzeit Verordnung
<b>AW</b>	Alterswoche
<b>BS-RL</b>	Bio Suisse Richtlinien
<b>BTS</b>	Besonders tierfreundliche Stallhaltung
<b>CM</b>	Kortikosteron-Metaboliten
<b>CRF</b>	Corticotrophin-Releasing-Faktors
<b>DZV</b>	Direktzahlungsverordnung
<b>EIA</b>	Enzym-Immunoassays
<b>EU</b>	Europäische Union
<b>FiBL</b>	Forschungsinstitut für biologische Landwirtschaft, Schweiz
<b>HBV</b>	Höchstbestandesverordnung
<b>HNB</b>	H&N Brown Nick
<b>HNS</b>	H&N Super Nick
<b>HPA</b>	Hypothalamo-Pituitary-Adrenocortical Achse
<b>KAG</b>	Konsumenten-Arbeits-Gruppe für tier- und umweltfreundliche Nutztierhaltung
<b>Knospe</b>	Bio Suisse
<b>RAUS</b>	Regelmäßiger Auslauf im Freien
<b>SAM</b>	Sympatho-Adrenal Medullary System
<b>TSchV</b>	Schweizer Tierschutzverordnung
<b>TSchG</b>	Schweizer Tierschutzgesetz
<b>WBF-BioV</b>	Verordnung des WBF (Eidgenössisches Departement für Wirtschaft, Bildung und Forschung) über die biologische Landwirtschaft



# 1 Einleitung

Für die kommerzielle Geflügeltierhaltung standen im Jahr 2016 in den 27 Mitgliedstaaten der Europäischen Union (EU) 378,2 Mio. Legehennenplätze zur Verfügung und 7.467 t Eierzeugnisse wurden produziert (MEG Marktbilanz Eier und Geflügel, 2018). Das Interesse der Konsumenten verlagert sich zunehmend von günstig und konventionell auf fair und ökologisch. So nahm im Jahr 2016 die Biolandwirtschaftsfläche in Europa um 6,7%, in der EU um 8,2 % zu (Forschungsinstitut für biologischen Landbau (FiBL), 2018). Für die allermeisten Schweizer Labels, wie für einen Großteil der Schweizer Tierwohl-Labels, z.B. „IP-Suisse“, gelten auch für die Schweizer Bio-Label, u.a. „Bio-Suisse“ und „KAGfreiland“, die staatlichen Tierwohl-Förderprogramme „Besonders tierfreundliche Stallhaltung“ (BTS) und „regelmäßiger Auslauf im Freien“ (RAUS) als Grundvoraussetzung (Direktzahlungsverordnung (DZV), 2017). Vom Konsumenten werden die Labels mit einer tiergerechten, den natürlichen Lebensbedingungen der Tiere entsprechenden Tierhaltung und einem damit einhergehenden besseren Tierwohl gleichgesetzt. Diesem kommt immer mehr Beachtung und steigendes öffentliches Interesse zu (Bär, 2011). Mit dem Terrestrial Code (2017) stellt die Weltorganisation für Tiergesundheit (World Organisation for Animal Health, OIE) ein Referenzdokument internationaler Standards für die Tiergesundheit und Zoonosen zur Verfügung. Verfasst wurde dieser durch die Veterinärbehörden der OIE-Mitgliedstaaten selbst. Er beschreibt mit den international anerkannten „fünf Freiheiten“ das Recht auf Wohlergehen für Tiere. Gemäß diesem Abkommen kann das primäre Wohlergehen eines Tieres erreicht werden, durch die Freiheit von negativen Erfahrungen. Zu diesen zählen Hunger, Mangelernährung und Durst, Angst und Distress, physische und thermische Beschwerden sowie Schmerzen, Verletzungen und Krankheiten. Ebenso sollte es jedem Tier möglich sein, sich in normale Verhaltensmuster auszudrücken.

Der Tiertransport stellt in Bezug auf den Tierschutz und die oben genannten „fünf Freiheiten“ eine Ausnahmesituation dar, da für eine bestimmte Zeitspanne das Wohlergehen der Tiere mitunter eingeschränkt ist. Um nach Art. 1 des Schweizer Tierschutzgesetzes, (TSchG, 2005) „(...) die Würde und das Wohlergehen des Tieres“ oder des deutschen Tierschutzgesetzes (TierSchG, 2006) „(...) für das Tier als Mitgeschöpf dessen Leben und Wohlbefinden (...)“ möglichst in allen

Bereichen „zu schützen“, werden als verbesserungswürdig anerkannte Gesetze und Verordnungen immer wieder angepasst. So unterliegen nationale und europäische Bestimmungen immer neuen Veränderungen, welche innerhalb der EU auf Grundlage der Richtlinie 98/58/EG über den Schutz von landwirtschaftlichen Nutztieren (1998) erfolgen können.

Die Lage der Aufzucht- und Legehennenbetriebe an geografisch verteilten Standorten erfordert, dass die Tiere auf der Straße über unterschiedlich lange Strecken transportiert werden müssen. Ziel der in dieser Dissertation vorgestellten Analyse ist es, die Belastung 18-wöchiger, ökologisch aufzogener Junghennen auf zwei praxisrelevanten Transportvarianten jeweils vom Aufzuchtbetrieb bis zum Legehennenbetrieb zu untersuchen. Verglichen wird der „Transport mit Fahrtunterbrechung“, Transportvariante I mit dem „Transport ohne Fahrtunterbrechung“ bzw. dem „direkten Transport“, Transportvariante II. Ausgehend von der Hypothese, dass die Stressbelastung längerer Transporte („Transport mit Fahrtunterbrechung“), im Unterschied zu kürzeren Transporten („Transport ohne Fahrtunterbrechung“) geringer ausfällt, wurde als Transportdauer die gesamte Zeit der Bio-Junghennen in den Transportkisten, beginnend mit der Ausstellung im Aufzucht- und endend mit der Einstallung im Legehennenbetrieb. Schwerpunkt der vorliegenden Feldstudie ist die Messung der Stressbelastung über das nicht-invasive Hormonmonitoring (Corticosteron-Metaboliten im Kot) nach Rettenbacher et al. (2004).

## 2 Literaturübersicht

Im Folgenden werden die gesetzlichen Vorgaben und der Stand der Wissenschaft zum Thema der Arbeit zusammengefasst. Diese beinhaltet die Haltung von Jung- und Legehennen sowie deren Transport unter Einbeziehung des Tierwohlrechts. Da die untersuchten Junghennen gemäß Bio Suisse Richtlinien (BS-RL) (Bio Suisse, 2017) gehalten wurden, liegt der Schwerpunkt auf dieser Haltungsform.

### 2.1 Rechtliche Anforderungen an die Jung- und Legehennenhaltung

Zur Wahrung des Tierwohls im Nutztierbereich gründeten sich schweizweit diverse Tierwohl-Labels. Die Basis der kommerziellen wie auch der privaten Nutztierhaltung bilden das Schweizer Tierschutzgesetz (TSchG) vom 16. Dezember 2005 und die Schweizer Tierschutzverordnung (TSchV) vom 23. April 2008, welche die Umsetzung des Tierschutzgesetzes im Detail regelt. In Tierschutzkontrollhandbüchern werden für die jeweilige Tierart Stallmasse, Transportbedingungen und vieles mehr festgelegt. Sie dienen dem Vollzug als Hilfsmittel für dessen Kontrollen und bieten den Tierhaltenden eine Orientierung darüber, was vom Vollzug kontrolliert wird (BLV, 2017). Für die biologische Nutztierhaltung in der Schweiz gilt die „Verordnung über die biologische Landwirtschaft und die Kennzeichnung biologisch produzierter Erzeugnisse und Lebensmittel“ (Bio-Verordnung, 1997) sowie die darauf gestützte „Verordnung des WBF (Eidgenössisches Departement für Wirtschaft, Bildung und Forschung) über die biologische Landwirtschaft“ (WBF, 1997) beide vom 22. September 1997, als Grundlage für alle Schweizer Bio-Label. Fundament der allermeisten Tierwohl-Label, der konventionellen sowie der biologischen, bilden die staatlichen Tierwohl-Förderprogramme „besonders tierfreundliche Stallhaltung“ (BTS) und „regelmäßiger Auslauf im Freien“ (RAUS), für welche der Bund Tierwohlbeiträge gemäß Verordnung über die Direktzahlungen an die Landwirtschaft vom 23. Oktober 2013 entrichtet (DZV, 2017). Da die vorliegende Untersuchung in Bio Suisse Betrieben durchgeführt wurde, kommt deren Richtlinien (2017) erhöhte Aufmerksamkeit zu. Zugrundeliegende Gesetze, Verordnungen, Richtlinien unter anderem werden im Folgenden weiter thematisiert.

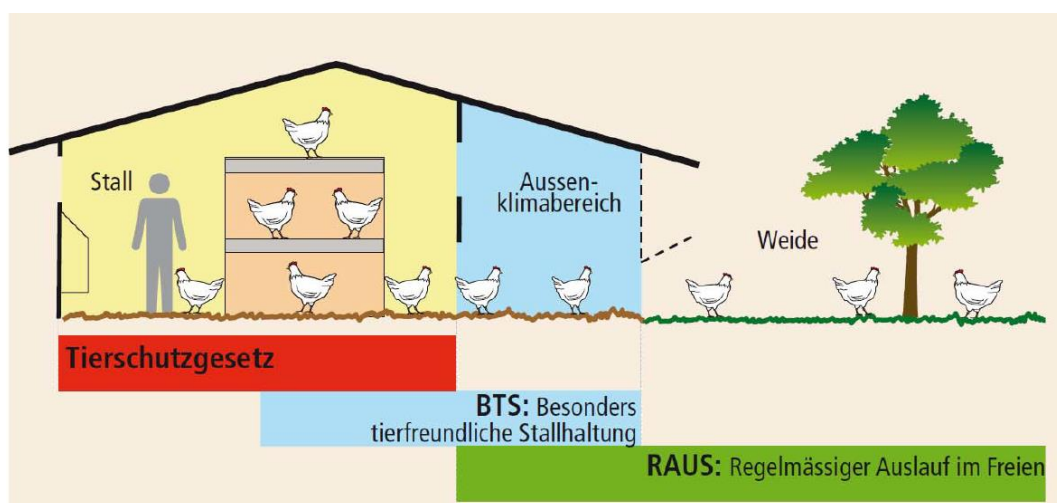


### 2.1.1 Stallungen

Die Haltung der Schweizer Jung- und Legehennen unterscheidet drei Haltungsformen:

1. die reine Bodenhaltung
2. die BTS-Bodenhaltung und
3. die RAUS-Freilandhaltung

Wie das Aviforum Schweiz, in „Haltungsformen in der CH-Eierproduktion“ (2013) beschreibt und schematisch darstellt (siehe Abb. 1). Während sich die reine Bodenhaltung im Stall nach den Vorgaben der TSchV (2008) und der Höchstbestandesverordnung (HBV, 2013) richtet, werden Haltungen mit Beteiligung am BTS-Programm des Bundes als wichtigste Anforderung mit einem Außenklimabereich (AKB) erweitert. Die RAUS-Freilandhaltung gewährleistet den Hennen basierend auf dem BTS-Programm zusätzlich täglichen Weidezugang. Beide Förderprogramme, BTS und RAUS, werden vom Bund in der DZV (2017) geregelt. Die Bio-Freilandhaltung ergänzt die konventionelle Freilandhaltung in mehreren Bereichen mit strengeren Haltungsanforderungen (Aviforum, 2013). Bio Suisse (2017) und KAGfreiland (2017) erweitern und verschärfen, neben anderen Bio-Labeln, diese Vorgaben.



**Abb. 1:** Schematische Darstellung der 3 Haltungsformen „Bodenhaltung“, „BTS-Bodenhaltung“ und „RAUS-Freilandhaltung“ (Aviforum, 2013).

So wird in den Bio Suisse-Richtlinien eine für Junghennen maximale Besatzdichte pro m<sup>2</sup> begehbbare Fläche im Stall von 8 Tieren und für Legehennen von 5 Tieren festgelegt. Der maximale Tierbesatz beträgt dabei pro Stalleinheit für Küken bis zur 18-wöchigen Junghenne 4000 Tiere und für Legehennen 2000. Ist der AKB während der Aktivitätszeit den Hennen über alle Stallöffnungen zugänglich und verfügt dieser über eine automatische Schieberöffnung sowie Beleuchtung, darf er als sogenannter „integrierter“ AKB zur begehbbaren Fläche des Stalls gezählt werden. Unter dieser Voraussetzung sind in der Nacht für die gleiche Anzahl m<sup>2</sup> begehbbare Fläche 13 Junghennen (ab 43. Alterstag), für Legehennen 8 zugelassen. Der Maximalbesatz von 24 Tieren pro m<sup>2</sup> Stallgrundfläche im Junghennenstall und 15 im Legehennenstall darf dabei nicht überschritten werden. Eine Gegenüberstellung der Anforderungen des Bundesbio gemäß WBF (1997) und der BS-RL (2017) bezüglich Besatzdichte der Hennenhaltung ist in Tabelle 1 dargestellt.

**Tabelle 1:** Vergleich der Anforderungen an die maximale Besatzdichte der Schweizer Hennenhaltung zwischen Bundesbio (WBF-BioV) und BS-RL gemäß „Stallmasse 2017 für die Haltung von Nutztieren im biologischen Landbau in der Schweiz“ des Forschungsinstituts für biologische Landwirtschaft (FiBL), Schweiz.

	Junghennen		Legehennen		Quellenangabe
max. Besatzdichte	Bundesbio	Bio Suisse	Bundesbio	Bio Suisse	
pro Stalleinheit	-	4000	3000	2000	WBF-BioV, BS-RL
pro m <sup>2</sup> begehbbare Fläche	9,3 (14)	8 (15)	5	5	TSchV, WBF-BioV, BS-RL
pro m <sup>2</sup> begehbbare Fläche mit integriertem AKB	-	13 (15)	-	8	BS-RL
pro m <sup>2</sup> Stallgrundfläche	-	24 (30)	-	15	BS-RL

Zahl in Klammern ( ): Junghennen bis zum Alter von 42 Tagen.

### 2.1.2 Tiere

Gemäß Schweizer Bio-Verordnung (1997) Art. 16f Abs. 8 dürfen „(...) zum Aufbau eines neuen Tierbestandes Geflügel aus nicht biologischen Betrieben zugekauft werden, wenn die Küken spätestens am dritten Lebenstag eingestallt werden.“. Dies gilt ebenfalls gemäß BS-RL. Elterntierküken dürfen aus nicht biologischer Herkunft sein (Bio Suisse, 2017). Da es in der Schweiz keine eigene Bio-Hennen-Zucht gibt, betrifft dies ausnahmslos alle biologischen Elterntierherden. Zum Aufbau der Elterntierherden der Hosberg AG werden vom Legehennenzüchter und –verteiler H&N International aus Deutschland konventionelle H&N Elterntierküken, H&N Super Nick (HNS) und H&N Brown Nick (HNB), in die Schweiz importiert, gemäß Bio-Verordnung (1997) und BS-RL (2017) auf Bio umgestellt und zur H&N Legehennenzucht verpaart (Hosberg AG, 2017). Im Gegensatz zu den Elterntierküken müssen nach BS-RL (2017) die Bruteier der Knospe-Legehennen grundsätzlich von Knospe-Elterntieren abstammen, welche in einer zertifizierten Knospe-Brütereie ausgebrütet werden.

### 2.1.3 Transport

Für Tiertransporte in der Schweiz gilt gemäß Tierschutzgesetz (2008) eine Fahrzeit ab Verladeplatz von höchstens sechs Stunden. Seit der Anpassung des Art. 152a Abs.1 der TSchV (2008) am 28.Oktober 2015, wird die maximal zulässige Transportdauer von Tiertransporten festgelegt und auf acht Stunden, einschließlich Fahrzeit, begrenzt. Die „Fachinformation Tierschutz – Geflügeltransport“ des BLV definiert den Beginn der Transportzeit mit Abfahrt des Lastwagens vom Ursprungsbetrieb und das Ende mit Ankunft an der Endstation. Darin eingeschlossene Fahrtunterbrechungen dürfen vier Stunden nicht überschreiten (BLV, 2015). Fahrerinnen und Fahrer von Viehhandels- und Transportunternehmen müssen über eine vom BLV anerkannte fachspezifische Ausbildung oder fachspezifische Vermittlung von Kenntnissen oder Fähigkeiten verfügen (...). Für eine rasche Abwicklung der Ablieferung der Tiere beim Aufzuchtbetrieb und des Ausladens beim Legehennenbetrieb stehen die Tierhalter und Tierhalterinnen in der Pflicht (TSchV, 2008).

Der Junghennentransport erfolgt regulär in von der Firma UTZ (Bremgarten, Schweiz) hergestellten Stapelkisten (Abb. 2), welche über einen durch die TSchV (2008) festgelegten geschlossenen Boden verfügen.



**Abb. 2:** Fotografische Darstellung von Stapelkisten der Firma UTZ, Bremgarten, Schweiz für den Tiertransport (Fotos: H. Sprafke)

Gemäß Anhang 4, Tabelle 3 der Schweizer TSchV (2008) ist folgender Mindestraumbedarf beim Transport von Geflügel mit einem Lebendgewicht bis zu 3 kg pro Tier vorgeschrieben: eine Fläche je kg Lebendgewicht von 160 cm<sup>2</sup> und eine Mindesthöhe des Abteils von 24 cm. Die UTZ Stapelkisten, welche eine Höhe von 31,5 cm und eine Grundfläche von 5.565 cm<sup>2</sup> fassen, bieten somit Platz für eine maximale Besatzdichte von 34,8 kg pro Kiste. Mit einem Sollgewicht in der 18. Alterswoche (AW) der HNS von 1300 g pro Junghenne ergibt sich bei 16 Junghennen pro Kiste ein Gewicht von 18,7 kg und für HNB mit einem Sollgewicht von 1479 g ein Gewicht von 21,6 kg bei 16 Hennen pro Transportkiste.

## 2.2 Tierwohl

*Nur ein Tier, das sich wohl fühlt, erbringt optimale Leistung* (AGRIDEA, 2017).

Laut der Weltorganisation für Tiergesundheit (World Organisation for Animal Health, OIE) bedeutet Tierwohl, wie ein Tier mit den Bedingungen, unter denen es lebt, zurechtkommt. Der Terrestrial Code (OIE, 2017), ein Referenzdokument internationaler Standards für Tiergesundheit und Zoonosen, verfasst durch die Veterinärbehörden der OIE-Mitgliedstaaten, beschreibt mit den international anerkannten „fünf Freiheiten“ das Recht auf Wohlergehen für Tiere, welche unter menschlicher Obhut gehalten werden. Gemäß diesem Abkommen kann das primäre Wohlergehen eines Tieres erreicht werden, durch:

1. Freiheit von Hunger, Mangelernährung und Durst
2. Freiheit von Angst und Distress
3. Freiheit von physischen und thermischen Beschwerden
4. Freiheit von Schmerzen, Verletzungen und Krankheiten
5. Freiheit normale Verhaltensmuster auszudrücken

### 2.2.1 Der Parameter Stress

Ein potentieller Parameter für das Tierwohl ist die Absenz von Stress (Hofer und East, 1998). Trotz der Tatsache, dass der Begriff „Stress“ unzählige Male verschieden definiert wurde, kann eine negative Korrelation zwischen Stress und Wohlergehen eines Tieres durch diverse Studien immer wieder neu belegt werden. Selye (1937) beschreibt die Abwehrmechanismen eines Tieres als Stress. Ein Stressor ist folglich jede Situation, die eine Abwehrreaktion des Individuums hervorruft. Auf Grundlage dieser Beschreibung können Abwehrreaktionen, abhängig vom Ursprung des stressauslösenden Reizes, spezifische wie auch unspezifische Prozesse des Körpers hervorrufen. Beide Arten schließen sich nicht gegenseitig aus und hängen von den integrativen Fähigkeiten des Nerven- und Hormonsystems, dem Sympatho-Adrenal Medullary System (SAM), welches den Sympathikus und das Nebennierenmark umfasst und der Hypothalamo-Pituitary-

Adrenocortical Achse (HPA), welche den Hypothalamus, die Hypophyse und die Nebennierenrinde umfasst, ab (Siegel, 1980).

Die Aktivierung des SAM führt unter anderem zu einer unmittelbaren Erhöhung des Herzminutenvolumens, des Blutdrucks, des Muskeltonus, der Nervensensibilität und der Atemfrequenz (Siegel, 1980). Die daraus resultierende Reaktion, „fight or flight“ („Kampf oder Flucht“) genannt, beschreibt die rasche Anpassung des Lebewesens an eine Gefahrensituation (Cannon, 1929). Ursächlich für diese Reaktion ist die hormonelle Wirkung der Catecholamine Epinephrin und Norepinephrin. Diese werden über einen Impuls des vegetativen Nervensystems vom Nebennierenmark sezerniert. Der äußere thermische Stressor „Hitze“ zum Beispiel führt bei Vögeln zu einer signifikanten Erhöhung der Plasmakonzentration an den genannten Catecholaminen. Die hohe Temperatur löst eine spezifische Reaktion aus, welche sich unter anderem in einer Erweiterung der oberflächlichen Blutgefäße zeigt, um den Blutfluss zur Haut zu vergrößern und die Wärmeableitung zu beschleunigen (Edens und Siegel, 1975; Sturkie und Lin, 1968).

Die Aktivierung der HPA beginnt mit der Freisetzung des Corticotropin-Releasing-Faktors (CRF) aus dem Hypothalamus, welcher wiederum die Freisetzung des adrenocorticotropen Hormons (ACTH) aus der Hypophyse stimuliert und resultiert in einer Ausschüttung von Steroidhormonen, den Kortikosteroiden, aus der Nebennierenrinde (Holmes und Phillips, 1976). Während bei Säugern Kortisol das primäre Kortikosteroid ist (Heftmann und Mosettig, 1961), ist bei Vögeln Kortikosteron vorwiegend (Carsia und Harvey, 2000). Dauerhaft erhöhte Kortikosteronspiegel, infolge chronischen Stresses, führen unter anderem zu einer verminderten Gewichtszunahme (Bartov et al., 1980), reduzieren die Skelettverkalkung (Siegel und Latimer, 1970) und verringern die individuelle Fitness durch Immunsuppression (Munck et al., 1984).

Im Gegensatz zu einem spezifischen Stressor, welcher eine spezifische Reaktion auslöst und in der Regel von kurzzeitiger Dauer ist, geht das Tier als Reaktion auf einen unspezifischen Stressor, der in der Regel langfristig wirkt, in einen allgemeinen Stresszustand über. Letztlich resultiert jedoch jeder gescheiterte Versuch, einem Stressor zu entfliehen, in einer unmittelbaren Aktivierung der HPA (Siegel, 1980). Catecholamine erleichtern wahrscheinlich diese Hormonkaskade, da sie die Freisetzung des CRF aus dem Hypothalamus (Plotsky, 1988), die ACTH-Freisetzung aus der Hypophyse und die Kortikosteroid-Freisetzung aus der Nebennierenrinde stimulieren (Axelrod und Reisine, 1984). Wie bereits eingangs

erwähnt, schließen sich spezifische und unspezifische Prozesse des Körpers nicht gegenseitig aus. Sie treten gleichzeitig auf und können verheerende Auswirkungen aufeinander haben (Siegel, 1980).

### *2.2.1.1 Kortikosteron-Monitoring*

Die Sezernierung von Kortikosteron, dem primär vorkommenden Kortikosteroid in Vögeln (Carsia und Harvey, 2000), erfolgt unter anderem als Reaktion auf Stress und kann für dessen Beurteilung herangezogen werden. Die Plasma-Kortikosteron-Konzentration ist ein verlässlicher Indikator zur Stressermittlung in Geflügel (Beuving und Vonder, 1986), welche jedoch allein durch das Verfahren der Blutprobenahme beeinflusst werden kann (Harvey et al., 1980). Gemäß Beuving und Vonder (1978) führt bereits eine Fixation von 45 Sekunden zu einem Anstieg des Wertes. Eine Beeinflussung des Parameters erfolgt demgemäß innerhalb kürzester Zeit, was die gezielt unbeeinflusste Probennahme erschwert. Die invasive Prozedur schränkt nicht nur das Recht der Tiere auf Wohlergehen ein, indem es in die genannten „fünf Freiheiten“ eingreift, sondern ist auch gesetzlich auf ein Minimum zu reduzieren: „Tierversuche, die dem Tier Schmerzen, Leiden oder Schäden zufügen, es in Angst versetzen, sein Allgemeinbefinden erheblich beeinträchtigen oder seine Würde in anderer Weise missachten können, sind auf das unerlässliche Maß zu beschränken“ (TSchG, 2005).

Das nicht-invasive Hormonmonitoring, welches über die Untersuchung von Kortikosteron-Metaboliten (CM) aus Kotproben erfolgt, bietet nicht nur eine stress- und feedbackfreie Probennahme, sondern ermöglicht diese zudem unlimitiert. Im Gegensatz zur Plasma-Kortikosteron-Messung, welche einen präzisen Hinweis über die Kortikosteron-Sekretion zu einem bestimmten Zeitpunkt liefert, wird mit der fäkalen Kortikosteron-Messung die Sekretion eines bestimmten Zeitraums ermittelt (Scheiber et al., 2005). Das entwickelte Enzym-Immunoassays (EIA) wurde physiologisch (Rettenbacher et al., 2004) und biologisch (Rettenbacher und Palme, 2009) validiert. Die Untersuchung wurde mit ISA Brown Legehybriden eines konventionellen Züchters durchgeführt. Eine Stimulierung der Kortikosteroid Ausschüttung, welche mittels ACTH-Injektion induziert wurde, zeigte einen ersten Peak der CM-Werte nach 1 bis 1,5 Stunden (Rettenbacher et al., 2004). Ein auf das Tier einwirkender Stressor lässt sich folglich ab circa 1 Stunde nach dessen Beginn über den CM-Wert nachweisen.

#### 2.2.1.2 *Transport- und Translokationsstress*

Während des Transports sind die Hennen einer Vielzahl potentieller Stressoren ausgesetzt. Insbesondere thermischer Stress belastet die Tiere und bedeutet neben Futter- und Wasserentzug sowie dem Ausgesetztsein von Erschütterungen, Beschleunigung und Stößen eine Einschränkung des Wohlbefindens der Tiere (Mitchell und Kettlewell, 2009).

Zur biologischen Validierung der nicht invasiven Messung von Kortikosteronmetaboliten aus Fäzes (Rettenbacher et al., 2004) verglichen Rettenbacher und Palme (2009) die Auswirkungen unterschiedlich starker Stressoren auf ISA Brown Legehybriden. Über 36 Stunden hinweg wurden alle individuellen Kotproben gesammelt, ohne dass die Tiere manipuliert wurden (Basalwerte), nach 10-minütiger Fixierung, nachdem die Tiere eine Stunde transportiert wurden (zur Beurteilung des Transportstresses) und nachdem die Tiere in eine neue Umgebung verbracht wurden (zur Beurteilung des Translokationsstresses). Unterschiede in den Basalwerten über die Zeit hinweg zeigten keine signifikanten Unterschiede. Auch führte die 10-minütige Fixierung zu keiner erhöhten CM-Konzentration. Die Verbringung in eine neue Umgebung resultierte in den höchsten CM-Werten. Innerhalb der ersten 1-3 Stunden wurde ein Mittelwert von 428 nmol/kg gemessen, welcher unter dem Höchstwert von 495 nmol/kg des Zeitraums zwischen 3-6 Stunden nach Translokation lag. Der Basalwert wurde während des gesamten Messzeitraums von 36 Stunden nicht wieder erreicht. Im Vergleich zum Translokationsstress wurde der Maximalwert des Transportstresses innerhalb der ersten 3 Stunden gemessen und lag mit 328 nmol/kg unterhalb des Translokations-Höchstwertes. Der Wert nahm fortan kontinuierlich ab. Ebenso wie beim Translokationsstress sank der Wert innerhalb der ersten 12 Stunden signifikant mit dem Unterschied, dass bereits im Zeitraum von 6-12 Stunden der Basalwert wieder erreicht wurde (Rettenbacher und Palme, 2009).



### 2.2.1.3 Unterschiede zwischen den Hennenlinien

Es ist bekannt, dass weiße Legehennenherden flattriger und ängstlicher gegenüber Menschen erscheinen als braune Herden (Murphy, 1976). Braune Hyline Hennen mit einer geringeren Kortikosteronantwort bezüglich Handling und weniger Angst als weiße Leghorn Hennen (Fraisie und Cockrem, 2006) haben eine proaktive Persönlichkeit, weiße Leghorn Hennen haben eine reaktive Persönlichkeit (Cockrem, 2007). Sie reagieren auf Stressoren mit höheren Kortikosteronwerten und sind sensibler gegenüber Umweltreizen. Messungen bei braunen und weißen Hennen in Ruhe zeigen jedoch aus Plasma (Cheng und Jefferson, 2008; Fraisie und Cockrem, 2006) und Fäzes (Fraisie und Cockrem, 2006) identische Ergebnisse. Die Basalwerte beider Linien scheinen demnach bei ungestörten Hennen gleich zu sein.

### 2.2.2 Mensch-Tier-Beziehung

Untersuchungen, bei denen die Reaktionen von Legehennen gegenüber den Menschen geprüft werden, stellen neben den Messungen von Kortikosteronkonzentrationen nützliche Instrumente zur Beurteilung des Tierwohls dar. So scheint chronischer Stress, ausgelöst durch wiederholte Konfrontation mit Furcht auslösenden Menschen, das Wohlbefinden der Tiere zu reduzieren (Hemsworth, 2003). Hennen verallgemeinern zum einen ihre frühere Erfahrung mit Menschen für andere Menschen (Jones, 1994) sind jedoch zum anderen in der Lage zwischen verschiedenen Menschen zu unterscheiden (Davis und Taylor, 2001). Raubek (2007) entwickelte anteilig zum EU-Projekt „Welfare Quality®“ Methoden zur Erhebung der Mensch-Tier-Beziehung auf nicht in Käfigsystemen gehaltenen Jung- und Legehennenbetrieben. Sie konnte in einer tierexperimentellen Studie an Legehennen nachweisen, dass eine gute Mensch-Tier-Beziehung mit einem niedrigeren Kortisolspiegel im Blut und einer höheren Legeleistung einhergeht. Die Anzahl visueller Kontakte korreliert positiv zur Ausweichdistanz adulter Legehennen. So reduziert sich die Ausweichdistanz bzw. die Vermeidungsrate der Hennen durch regelmäßige Kontakte (Barnett et al., 1994; Graml et al., 2008).

### **3 Tiere, Material und Methoden**

#### **3.1 Projektbeschreibung**

Die vorliegende Arbeit zur Untersuchung des Tierwohls von Junghennen während des Transports vom Aufzucht- zum Legebetrieb wurde im Auftrag des Schweizer Bio-Eierlieferanten Hosberg AG in Rüti durchgeführt und in Zusammenarbeit mit dem Lehrstuhl für Tierschutz, Verhaltenskunde, Tierhygiene und Tierhaltung der Ludwig-Maximilians-Universität München angefertigt. An diesem Projekt haben sich zwei weitere in der Schweiz ansässige Betriebe, der Geflügelbrüterei-Betrieb Wüthrich Brüterei AG in Belb und das ebenfalls auf Geflügel spezialisierte Unternehmen Prodavi AG in Schötz beteiligt.

Die Untersuchung umfasste 15 Praxistransporte von Bio Suisse Junghennen und vergleicht zwei verschiedene Transportvarianten. Die Studie erstreckte sich über einen Zeitraum von sieben Monaten (Januar 2016 bis Juli 2016). An der Untersuchung nahmen insgesamt 21 Produzentenbetriebe, davon sechs Aufzucht- und 15 Legebetriebe des Unternehmens Hosberg AG und vier Aufzuchtbetriebe des Unternehmens Wüthrich Brüterei AG teil. Die vorliegende Dissertation befasst sich schwerpunktmäßig mit der Untersuchung von Corticosteron-Metaboliten (CM), welche nicht-invasiv aus dem Kot der Junghennen extrahiert und analysiert wurden. Die Erhebung des Stresslevels wurde mit dem Ziel verfolgt, zum Schutz des Tierwohls zwei in der Schweiz praxisrelevante Transportvarianten miteinander zu vergleichen. Zur Beurteilung des Gesundheitsstatus wurde das Gefieder und das Integument bonitiert und die Werte vor mit denen nach Transport verglichen. Ebenfalls einbezogen wurde die Mensch-Tier-Beziehung, welche noch im Aufzuchtbetrieb analysiert wurde.

#### **3.2 Tierwohl**

##### **3.2.1 Transport**

Grundlage der Studie sind Untersuchungen zur Umstallung der Bio-Junghennen vom Aufzucht- zum Legebetrieb. Das Augenmerk wurde dabei auf zwei praxisrelevante Transportvarianten gerichtet: Transportvariante I, „Transport mit

Fahrtunterbrechung“ und Transportvariante II, „Transport ohne Fahrtunterbrechung“ bzw. „direkter Transport“.

Für beide Transportvarianten erfolgte die Ausstallung durchschnittlich gegen 19:00 Uhr (Min. 18:40, Max. 20:00). Zur Ausstallung wurden vom entsprechenden Landwirt zuvor instruierte Helfer organisiert. Die Ausstallungen erfolgten regulär zu jeder Jahreszeit aus dem abgedunkelten Stall. Die Tiere wurden an den Ständern gefangen und außerhalb des Stalls in die mit Späne eingestreuten Transportkisten gegeben. Pro Kiste wurden 16 Junghennen verladen. Die heute primär in der Schweiz für den Transport verwendeten Stapelkisten der Firma UTZ ergeben mit einer Länge von 90,5 cm und einer Breite von 61,5 cm eine Grundfläche von  $5.565 \text{ cm}^2$ . Die gegebene Höhe mit 31,5 cm übersteigt die geforderte Mindesthöhe von 24 cm. Die Maße übersteigen die in der TSchV vorgegebenen Mindestmaße. Daraus ergibt sich eine maximale Besatzdichte von 34.800 g pro Kiste. Mit einem Sollgewicht in der 18. Alterswoche (AW) der HNS von 1.170 g pro Junghenne ergab sich bei 16 Junghennen pro Kiste ein Gewicht von 18.700 g, für HNB mit einem Sollgewicht von 1350 g ergab sich ein Gewicht von 21.600 g bei 16 Junghennen pro Transportkiste.

Während beim direkten Transport (Transportvariante II) die Tiere direkt im Anschluss an die Ausstallung zum Produzentenbetrieb transportiert und eingestallt wurden, erfolgte für den Transport über Nacht (Transportvariante I) eine Fahrtunterbrechung. Ausgehend von der Hypothese, dass die Stressbelastung längerer Transporte („Transport mit Fahrtunterbrechung“), im Unterschied zu kürzeren Transporten („Transport ohne Fahrtunterbrechung“) geringer ausfällt, wurde als Transportdauer die gesamte Zeit der Bio-Junghennen in den Transportkisten, beginnend mit der Ausstallung im Aufzuchtbetrieb und endend mit der Einstellung im Legehennenbetrieb, definiert und als „Kistensitzzeit“ erfasst. Die Kistensitzzeit für direkte Transporte betrug durchschnittlich 5 Stunden, jene für Transporte über Nacht 13,5 Stunden. Unmittelbar nach Ankunft am Legebetrieb wurden die Junghennen einzeln aus den Kisten genommen und in den Legehennenstall gesetzt.

### 3.2.2 Kortikosteron-Monitoring

Grundlage der Studie ist die Untersuchung des Transport- und Translokationsstresses bei der Umstallung von Bio-Junghennen vom Aufzucht- zum Legebetrieb. Das Hormon-Monitoring erfolgte nicht-invasiv über die Messung der Kortikosteron-Metaboliten (CM) im Kot der Tiere. Untersucht wurden zwei praxisrelevante Transportvarianten: „Transport mit Fahrtunterbrechung“, Transportvariante I und „Transport ohne Fahrtunterbrechung“ bzw. „direkter Transport“, Transportvariante II. Die erste Probennahme zur Ermittlung der basalen CM-Konzentration erfolgte durchschnittlich drei Tage vor der geplanten Umstallung jeweils gegen 9 Uhr im Aufzuchtbetrieb. Zur Beurteilung eines möglichen Transport- und Translokationsstresses wurden nach Ankunft am Produzentenbetrieb weitere Proben gezogen. Die Kotprobenahme für die Transportvariante I erfolgte nach 0 h, 3 h, 6 h, 10 h, 24 h, 48 h und 72 h unmittelbar im Anschluss an dieEinstellung im Legebetrieb. Für die Transportvariante II wurden zusätzliche Proben 34 h und 58 h nach Einstellung im Legebetrieb zur Berücksichtigung des zirkadianen Rhythmus der Kortikosteron-Ausscheidung genommen. Es wurden jeweils aus unterschiedlichen Volieren-Ebenen und Stall-Bereichen je 21 HNS und HNB aus dem zuvor abgedunkelten Stall gefangen und einzeln auf 42 gereinigte und desinfizierte Transportkisten aufgeteilt. Die komplette, frische und individuelle Kotprobe wurde unmittelbar nach Absatz mit einer PE-LD Plastiktüten genommen und auf Trockeneis bei -78,5°C tiefgefroren. Die Kisten der beprobten Junghennen wurden mit einer Wäscheklammer gekennzeichnet, um eine versehentliche Doppelbeprobung zu verhindern. Beprobte Tiere wurden an beiden Ständern „MS Shippers Markierungsspray für Tiere“ farblich markiert und zurück in den Stall gesetzt. Die frei gewordene Kiste wurde feucht gereinigt und mit einer neuen Henne besetzt, um gewährleisten zu können, dass alle 21 Proben pro Hennenlinie im gegebenen Zeitrahmen von maximal 1 Stunde nach erstmaligem Zutritt zum Stall zur vorgegebenen Probennahmezeit beendet werden konnte. Eine Zeitüberschreitung spiegelt gemäß Rettenbacher und Palme (2009) den zuvor durch das Fangen induzierten Stress im Analysenergebnis wieder. Es wurde keine Henne doppelt beprobt.

Zur Messung der CM-Konzentration wurden die insgesamt 5750 Kotproben im Labor der Veterinärmedizinischen Universität Wien, Abteilung für Physiologie, Pathophysiologie und Experimentelle Endokrinologie, analysiert. Von jeder

Kotprobe wurden 0,5 g in ein Reagenzglas gegeben und mit 5 ml 60 %-igem (v/v) Methanol versetzt für 30 min auf einem Multi-Vortex (RapidVap, Labconco, Kansas City, USA) geschüttelt (Palme et al., 2013). Im Anschluss an die 15-minütige Zentrifugation (GS-6KR Centrifuge, Beckman, Krefeld, Deutschland) wurden 0,5 ml Aliquot vom Überstand mit Assaypuffer 1:10 verdünnt und die Konzentration an Kortikosteron-Metaboliten im Kot mittels Kortison Enzym Immunoassay (EIA) bestimmt (Rettenbacher et al., 2004).

### 3.2.3 Tier-Mensch Beziehung

Zur Beurteilung der Ausweichdistanz und der Neugier der Herde in gewohnter Umgebung, kam der Touch Test nach Raubek (2007) zum Einsatz. Der Test erfolgte im Anschluss an die Kotprobennahme im Außenklimabereich des Aufzuchtbetriebs. Zur Durchführung des Touch Tests mit Betreten des Außenklimabereichs, kam es zum Erstkontakt zwischen Junghennenherde und Untersuchungsperson. Zur Durchführung bewegte sich die Untersuchungsperson langsam, einen Schritt pro Sekunde, durch den Außenklimabereich und näherte sich einer Gruppe von mindestens drei Hennen, hockte sich nieder für 10 sec und zählte anschließend rundherum alle Hennen innerhalb einer Armlänge. Danach versuchte die Untersuchungsperson eine Henne nach der anderen zu berühren. Der Test wurde so lange durchgeführt bis 33 Gruppen untersucht wurden. Jeder Versuch sich einer Gruppe zu nähern oder nieder zu hocken wurde gezählt, auch dann, wenn sich alle Hennen von der Untersuchungsperson zurückgezogen haben (Graml et al., 2008).

### 3.2.4 Exterieur-Beurteilung

Die Beurteilung des Gesundheitszustandes der Hennen, des Gefieders und des Integuments, erfolgte im Aufzuchtbetrieb zwei Tage vor der geplanten Ausstellung, jeweils im Anschluss an die Kotprobenahme und den Touch Test. Eine zweite Erhebung wurde nach erfolgreichem Transport im Legehennenbetrieb, jeweils im Anschluss an die Einnistung nach der ersten Kotprobenahme durchgeführt. Die Beurteilungsgrundlage ist das LayWel Benotungsschema nach Tauson et al. (2005) modifiziert nach Schwarzer et al. (2015) (Anhang 1).

Zunächst wurde der Gesamteindruck der Legehennen beurteilt. War dieser gut, bekam die Henne eine „0“. Ein schlechter Gesamteindruck hingegen resultierte in einer „1“. Nach Tauson et al. (2005) werden für die Gefiederbonitierung sechs Körperregionen getrennt voneinander beurteilt. Die Qualität des Befiederungszustandes wird mit vier bis einem Punkten bewertet. Vier Punkte entsprechen dem besten erreichbaren Wert mit vollständiger Befiederung. Schwerwiegende Gefiederschäden, mit mehr als 75% Gefiederverlust, werden mit einem Punkt bewertet. Die Summe der einzelnen Körperbereiche gibt nach Tauson et al. (2005) ein gutes Gesamtbild des Gefiederzustandes bzw. des Integuments. Ein Wert von  $>18-20$  zeige einen guten Gefiederzustand an, während ein Wert  $<10-12$  auf schwere Gefiederschäden hinweist. Diese können den gesamten Körper (z.B.:  $2+2+2+2+2+2=12$ ), einen Großteil des Körpers (z.B.:  $3+1+2+2+2+2+2=12$ ) oder die große Mehrheit des Körpers (z.B.:  $4+1+1+3+1+2=12$ ) betreffen. Eine Feder gilt als beschädigt, wenn Sie abgebrochen ist oder eine Kahlstelle von über 1 cm beidseits entlang des Federkiels aufweist. Verletzungen des Integuments, dessen Beurteilung Tauson et al. (2005) auf zwei Körperregionen begrenzt, werden mit 3 bis 1 Punkte bewertet. Schwarzer et al. (2015) sieht für die Beurteilung des Gefieders und des Integuments weitere Körperregionen vor. Einen Vergleich beider Schemata ist in Tabelle 2 dargestellt.

**Tabelle 2:** Vergleich der Bonitierungsschemata Gefieder und Integument zwischen Tauson et al. (2005) und Schwarzer et al. (2015).

	Tauson et al. (2005)	Schwarzer et al. (2015)		Tauson et al. (2005)	Schwarzer et al. (2015)
Gefieder	4-1 Punkt	4-1 Punkt <sup>1</sup>	Integument	3-1 Punkt	2-0 Punkte <sup>2</sup>
	Hals	Hals dorsal		-	Hals dorsal
	-	Hals ventral		rear part of body	Rücken
	Brust	Brust		-	Flügeldecke
	Rücken	Rücken		-	Schwungfedern
	Kloake/Rücken	-		-	Stoß
	Flügel	Flügeldecke		-	Hals ventral
	Schwanz	-		-	Brust
	-	Bauch		-	Bauch
	-	Schenkel		-	Schenkel
	-	Stresslinien (0/1)		-	Kopf (0/1)
	-	Stoß (0/1) <sup>3</sup>		-	Kamm (0/1)
	-	Schwungfedern (0/1) <sup>3</sup>		-	Augenlider (0/1)

<sup>1</sup> Schwarzer et al. (2015) Gefieder: 4 = vollständige Befiederung, 3 = 1 beschädigte Feder, 2 = > 5 beschädigte Federn, 1 = kahl > 1 cm

<sup>2</sup> Verletzungen: 0 = keine Verletzungen; 1 =  $\emptyset \leq 0,5$  cm; 2 =  $\emptyset > 0,5$  cm

<sup>3</sup> 0 = keine Verletzung/Beschädigung vorhanden, 1 = Verletzung/Beschädigung vorhanden

Die Beurteilung der Schwungfedern, des Stoßes, des Vorhandenseins von Stresslinien sowie von Verletzungen an Kopf, Kamm und Augenlider, wurde gemäß modifiziertem Bonitierungsschema nach Schwarzer et al. (2015) durchgeführt, welches ausschließlich zwischen Vorhandensein von Schäden (1 Punkt) und nicht Vorhandensein von Schäden (0 Punkte) unterscheidet.

Für die Auswertung der insgesamt 1200 bonitierten Hennen wurden die Werte vor Umstallung mit den Werten nach Umstallung verglichen, um etwaige transportbedingte Gefiederschäden oder Verletzungen darzustellen.

### 3.2.5 Körpergewicht

Zur Überprüfung einer möglichen transportbedingten Gewichtsreduktion aufgrund des Futter- und Wasserentzugs wurde das Gewicht der jeweils gleichen Hennen vor und nach dem Transport erhoben. Die Gewichtsermittlung erfolgte mit einer BAT1 Geflügelwaage, VEIT Electronics, Moravany, Tschechien. 25 HNS und 25 HNB Hennen wurden während der Ausstallung gewogen, nummerisch am rechten und linken Ständer mit Edding-Egg-Color-Pen, Wunstorf, Deutschland, gekennzeichnet und auf vier Transportkisten aufgeteilt. Um die reguläre Anzahl von 16 Hennen pro Kiste zu gewährleisten wurden die Transportkisten um die entsprechende Anzahl fehlender Tiere ergänzt. Im Anschluss an die Kotprobenahme 0h nach Einstellung im Legebetrieb erfolgte die Vergleichswiegung.

### 3.2.6 Temperaturmessung

Während des gesamten Untersuchungszeitraums kamen zur Ermittlung der Umgebungstemperatur portable HOBO U10 Temperatur Datenlogger, Onset Computer Corporation, Bourne, USA, welche mit der dazugehörigen Software HOBOWare Pro, Version 3.7.5, ausgewertet wurden, zum Einsatz. Die Messungen begannen im Anschluss an die ersten Kotprobennahmen in Kopfhöhe der Tiere im Stall des Aufzuchtbetriebs mit zwei Datenloggern, welche über den gesamten Untersuchungszeitraum hinweg im Abstand von 10 min die Temperatur aufzeichneten. Während der Umstallung vom Aufzucht- zum Legebetrieb wurden die Temperaturen an vier verschiedenen Stellen des Tiertransportwagens innerhalb der mit Junghennen beladenen Transportkisten aufgezeichnet. Im Anschluss an die Einstellung wurden die Messungen im Stall des Legebetriebs in Tierkopfhöhe bis zum Untersuchungsabschluss fortgesetzt.

## 3.3 Stallungen und Tiere

Die Untersuchungsdaten der Dissertation beziehen sich ausschließlich auf die Untersuchungsergebnisse gemischtgehaltener Junghennen-Herden bestehend aus den Linien Bio H&N Super Nick (HNS) mit Bio H&N Brown Nick (HNB) des Bio-Eierlieferanten Hosberg AG und des Geflügelbrütereibetriebs Wüthrich Brütereie AG mit einem durchschnittlichen Alter von 18 Lebenswochen. Da es in der



Schweiz keine eigene Bio-Hennenzucht gibt, werden konventionelle H&N Elterntierküken des Legehennenzüchters und –verteilers H&N International aus Cuxhaven, Deutschland, in die Schweiz importiert, auf Bio umgestellt und zur H&N Legehennenzucht verpaart. Dabei werden die Bruteier der HNS von zwei Elterntierbetrieben mit drei Ställen und Bruteier der HNB von zwei Elterntierbetrieben mit zwei Ställen bereitgestellt.

Pro Aufzuchtstall werden zur Aufzucht der Legehennen HNS und HNB 4000 Hennen und 20 HNB Hähne bis zu einem Alter von 18 Wochen aufgezogen. Nach der Umstallung vom Aufzucht zum Legehennenbetrieb beträgt die maximal zulässige Herdengrösse 2000 Tiere. Das Verhältnis HNS zu HNB der untersuchten Legetierherden betrug während des gesamten Untersuchungszeitraums regulär 50:50 bis 60:40 und wurde in der Regel nach Umstallung in den Legebetrieb beibehalten (Mittelwert 56:44). Als Folge zum Praxisbezug entstammen die Herden unterschiedlichen Schlupfterminen. Alle Junghennen wurden gegen Krankheiten geimpft (Tabelle 3).

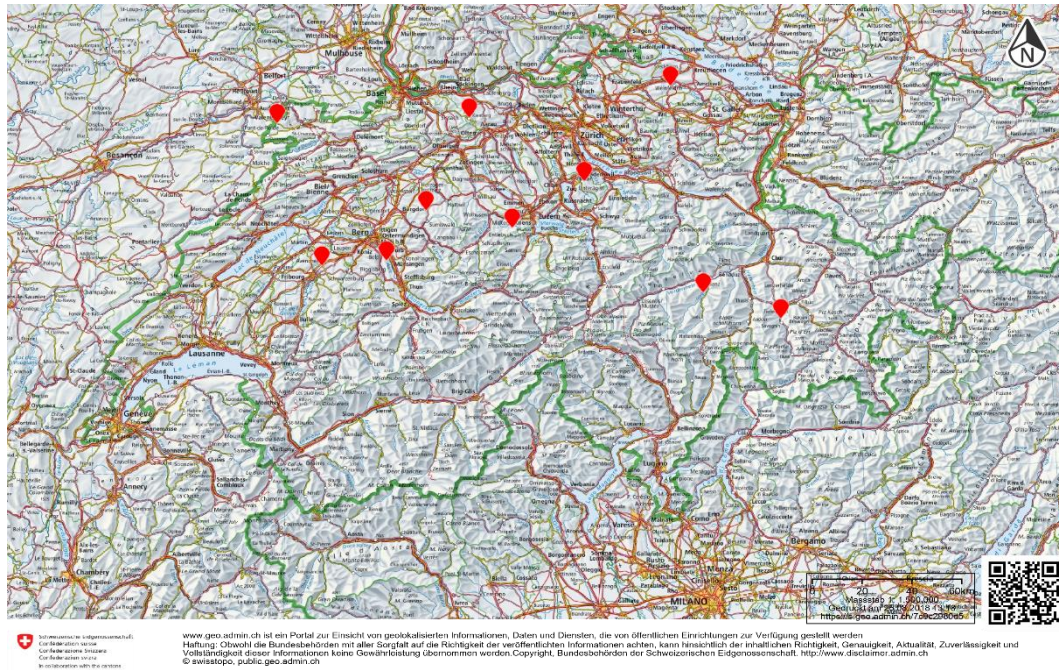
**Tabelle 3:** Impfprogramm während der Junghennenaufzucht laut Impfplan (Geflügelgesundheitsdienst GGD AG, Zürich, Schweiz, vom 20.06.2017).

Impfung gegen	1. Impfung	2. Impfung	3. Impfung	4. Impfung	5. Impfung	6. Impfung
Marek	1. Tag <sup>1</sup>					
Infektiöse Bronchitis	1. Tag <sup>2</sup>	14. Tag <sup>3</sup>	7. Woche <sup>3</sup>	9. Woche <sup>3</sup>	13. Woche <sup>3</sup>	Umstallung 1*
Kokzidiose	7. Tag <sup>3</sup>					
Infektiöse Bursitis	21. Tag <sup>3</sup>	28. Tag <sup>3</sup>				
Aviäre Enzephalomyelitis	11. Woche <sup>3</sup>					

<sup>1</sup>: intra muskuläre Impfung; <sup>2</sup>: Sprühimpfung; <sup>3</sup>: Trinkwasserimpfung

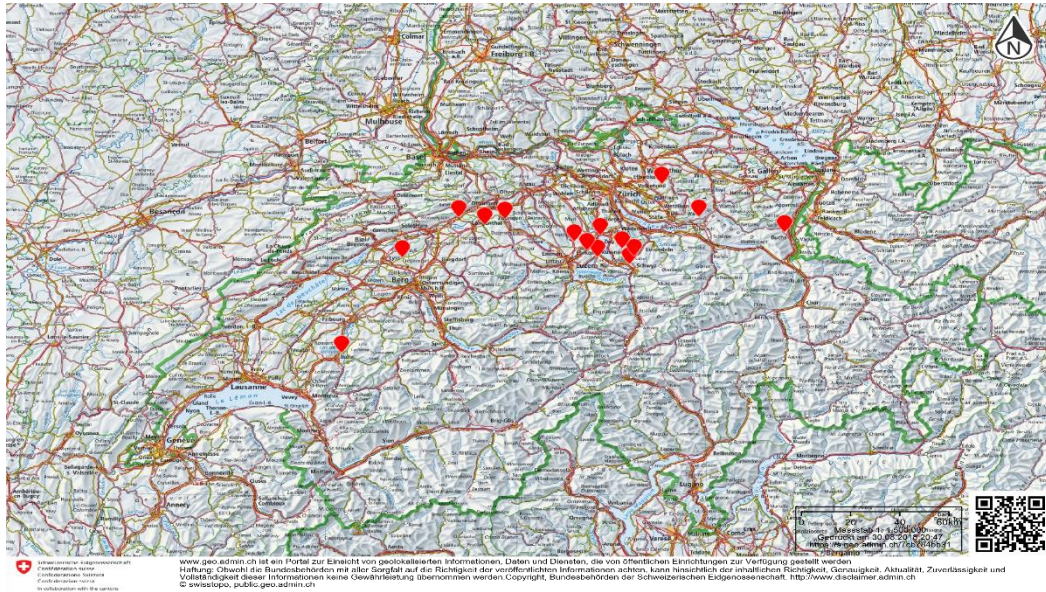
\*risikobasierte Impfung einzelner Betriebe bei Umstallung in den Legehennenbetrieb

Die Aufzucht und anschließende Legehennenhaltung erfolgte in Volieren-Systemen verschiedener Hersteller. Die Stallungen der untersuchten Aufzuchtbetriebe unterscheiden sich in Management, Bauweise und Lage. Sie befinden sich in den Schweizer Kantonen Bern (2), Freiburg, Graubünden (2), Jura, Luzern, Solothurn, Thurgau und Zug (Abb. 3).



**Abb. 3: Darstellung der** Lokalisation der teilnehmenden Aufzuchtbetriebe in den Schweizer Kantonen mittels topografischer Karte (Bundesamt für Landestopografie, 2018).

In allen Aufzuchtbetrieben wurde vor der Erstuntersuchung der Junghennenherde ein Fragebogen abgegeben, welcher pro Herdenumtrieb neu vom Tierhalter auszufüllen war (Anhang 2: Fragebogen Aufzuchtbetriebe). Die an der Untersuchung teilgenommenen Stallungen der Legebetriebe sind ebenfalls schweizweit verteilt und in den Kantonen Argau, Bern (2), Freiburg, Luzern (3), Schwyz(3), St. Gallen(2), Zug (2) und Zürich (Abb. 4) wiederzufinden.



**Abb. 4:** Darstellung der Lokalisation der Legebetriebe in den Schweizer Kantonen mittels topografischer Karte (Bundesamt für Landestopografie, 2018).

Futter und Wasser wurde automatisch und ad libitum zur Verfügung gestellt. Je nach Alter und Bedürfnis der Junghennen an Nährstoffen im Verlauf der Aufzucht und je nach Betrieb wurde die Fütterung in 1 bis 3 Phasen unterteilt und erfolgte via Kettenfütterung 3 bis max. 6 Mal täglich. Ebenfalls betriebsabhängig war die Struktur des verabreichten Futtermittels. Alle Aufzüchter der hosberg AG verfüttern Mehl. Die vier Aufzüchter der Wüthrich Brüterei AG verfüttern jeweils eine andere Futtermittelstruktur: Mehl, Pellets, gequetschtes oder granuliertes Futter. Das Futtermittel wird von folgenden Schweizer Futtermühlen hergestellt und an die Produzenten abgegeben: Alb. Lehmann Bioprodukte AG in Gossau, Mühle Rytz AG in Biberen, UFA AG in Herzogenbuchsee und Willi Grüninger AG in Flums.

Zwei der 11 Aufzuchtbetriebe und einer der 15 Legehennenbetriebe wurden umgebaut, während die übrigen Neubauten sind. Für alle an der Untersuchung beteiligten Ställe besteht gemäß Bio Suisse Richtlinien ein Antrittsprotokoll. Die Stallabnahme vor Antritt erfolgt durch einen spezialisierten Kontrolleur bezüglich Stallsystem, Tierbesatz und Auslauf. Eine Stalleinheit entspricht einem Stall, in dem maximal 4.000 Junghennen bzw. 2000 Legehennen gehalten werden dürfen. Beim Einstellen von Aufzuchtstieren darf der Maximalbesatz um 4 % (160 Tiere), beim Einstellen von Legehennen um 2 % (40 Tiere), unter Einberechnung der

natürlich durchschnittlichen Mortalitätsrate, überschritten werden (Bio Suisse, 2017).

### 3.4 Statistische Auswertung

Zu Beginn wurden alle erfassten Rohdaten der einzelnen Transporte aufgeschlüsselt und in Microsoft Excel 2013 der Microsoft Corporation, Redmond, USA, zusammengetragen. Alle in der Dissertation gezeigten Analysen wurden mit der statistischen Programmiersprache R (Version 3.2.4, R Core Team 2015) durchgeführt.

Für die statistische Analyse wurden die Beziehungen zwischen den Prädiktoren (Transportvariante, Legelinie, Herde) und den Zielgrößen (CM-Basalwerte, CM-Werte nach dem Transport, Wiedererreichen der Ausgangswert nach 72 Stunden, Unterschied der Gefiederbonitur vor und nach dem Transport, Transportgewicht) simultan mit gemischten Regressionsmodellen analysiert. Die Variable Herde wurde modelliert als unstrukturierter zufälliger Effekt, die Variablen Transportvariante und Legelinie als gewöhnlich feste Effekte. Für die metrischen Größen der basalen CM-Werte, der CM-Werte nach Transport, der Unterschiede der Gefiederbonitur vor und nach dem Transport und das Transportgewicht wurden normalverteilte Beobachtungsmodelle gewählt. Für die Modellierung des binären Merkmals Rückkehr zum Ausgangswert nach 72 Stunden wurde ein logistisches Regressionsmodell verwendet. Die Ergebnisse dieser Analyse werden als Odds Ratios (OR) ausgedrückt. Für die basalen CM-Werte wurde auch der zeitliche Verlauf berücksichtigt, indem die Zeit als unstrukturierter zufälliger Effekt im Rahmen des gemischten Regressionsmodells berücksichtigt wurde.

Alle gemischten Regressionsmodelle wurden mit Hilfe der integrated nested Laplace Approximation (Rue et al., 2009) innerhalb eines voll-Bayesianischen Setups geschätzt.





## 4 Publizierte Studienergebnisse



animals



Article

# Effect of Two Transport Options on the Welfare of Two Genetic Lines of Organic Free Range Pullets in Switzerland

Helena Sprafke <sup>1,\*</sup>, Rupert Palme <sup>2</sup> , Paul Schmidt <sup>3</sup>, Michael Erhard <sup>1</sup> and Shana Bergmann <sup>1</sup> 

<sup>1</sup> Department of Veterinary Sciences, Chair of Animal Welfare, Ethology, Animal Hygiene and Animal Husbandry, Faculty of Veterinary Medicine, LMU Munich, Veterinärstraße 13/R, DE-80539 Munich, Germany; m.erhard@tierhyg.vetmed.uni-muenchen.de (M.E.); s.bergmann@lmu.de (S.B.)

<sup>2</sup> Department of Biomedical Sciences, University of Veterinary Medicine, Veterinärplatz 1, A-1210 Vienna, Austria; Rupert.Palme@vetmeduni.ac.at

<sup>3</sup> Statistical Consulting for Science and Research, Zimmerstr. 10, DE-76327 Pfinztal, Germany; paul@statistische-modellierung.de

\* Correspondence: helenasprafke@outlook.com

Received: 23 August 2018; Accepted: 16 October 2018; Published: 19 October 2018



**Simple Summary:** Animal welfare has been of increasing interest to consumers and producers of animal products in Europe. Issues during transport affect both the wellbeing and the productivity of livestock. This study was conducted to analyze two practice-oriented transport variants of organically mixed-held white and brown pullets. No significant difference could be found between the transport variants. Instead, we discovered clear differences between the two genetic pullet lines.

**Abstract:** The welfare of two genetic lines of organic layer hen pullets—H&N Super Nick (HNS) and H&N Brown Nick (HNB)—was compared during two commercial transport variants of 15 flocks of mixed-reared birds. Birds were either transported overnight (with a break in travel), or were transported direct to the layer farm (without a break in travel). Samples of feces were collected non-invasively from 25 birds of each genetic line per flock for each transport variant before transportation to evaluate baseline values of glucocorticoid metabolites, and at 0 h, 3 h, 6 h, 10 h, 24 h, 34 h, 48 h, 58 h, and 72 h after the end of transportation, to measure transportation and translocation stress. We assessed the fear toward humans with the touch test before transportation, and we checked the birds' body condition by scoring the plumage condition and the occurrence of injuries. Body weight before and weight loss after transportation were determined, and ambient temperature was measured before, during, and after transportation. Stress investigations showed no significant differences between the transport variants (effect:  $-0.208$ ; 95% confidence interval (CI):  $(-0.567; 0.163)$ ). Instead, we discovered differences between the pullet lines (effect:  $-0.286$ ; 95% CI:  $(-0.334; 0.238)$ ). Weight loss was different between the transport variants (2.1 percentage points; 95% CI:  $(-2.6; -1.5)$ ) and between the genetic lines, as HNB lost significantly less weight than HNS (0.5 percentage points; 95% CI:  $(0.3; 0.7)$ ).

**Keywords:** animal welfare; transport; pullet; stress parameter; corticosterone metabolite

## 1. Introduction

The World Organization for Animal Health provides a reference document [1] of international standards for animal health and zoonosis; it grants animals kept under human care the internationally recognized “five freedoms” of welfare described as follows: freedom from hunger, thirst and

malnutrition; freedom from fear and distress; freedom from physical and thermal discomfort; freedom from pain, injury and disease; freedom to express normal behavior patterns.

The Swiss consumer assumes that organic livestock farming applies more species-appropriate animal husbandry corresponding to the animals' natural living conditions, and thus provides better animal welfare than conventional farming practices [2]. Animal transport is an exceptional situation, because animal welfare may be compromised for a certain time. The European Commission Regulation (EC) No 1/2005 [3], limits the transport duration of poultry to less than 12 h. The Swiss Animal Welfare Regulation has limited the maximum duration of animal transport to less than 8 h since its amendment to Art. 152a (1) of 28 October 2015 [4], like the German Animal Welfare Transport Regulation [5]. Whereas some of the German organic labels further limit the maximum transport durations to less than 4 h or 2 h [6–8], none provide specific requirements for poultry, pullets, or laying hens. Similarly, the Swiss organic labels Bio Suisse [9] and KAG (Consumer-Working-Group; German designation: Konsumenten-Arbeits-Gruppe) [10] refer to the transportation guidelines of the Swiss Animal Protection [11], which are designed for big and small animals, not including economic fowl. All regulations, including EC No 1/2005, disregard loading and unloading time (Table 1).

Various stressors such as climate, environment, nutrition, physical, and social and physiological conditions are likely to influence welfare and performance [12]. The present study examined the effects of transportation and translocation on the stress hormone levels of 18-week-old organically reared pullets of two mixed-held layer lines—H&N Super Nick and H&N Brown Nick—in transit from the rearing farm to the farm of laying hens (novel environment) in Switzerland. The geographically dispersed locations of rearing and laying farms require that hens are transported on the road over distances of varying lengths. We compared two practice-oriented transport variants. Although the transportation process is supposed to be the most stressful environmental challenge experienced by broilers [13], catching and handling of the birds may already have profound effects on the degree of physiological stress, and it may reduce welfare during the upcoming transit [14–16]. Thus, we took into account the entire duration of the hens being held in plastic crates, including loading and unloading time.

To evaluate the stress response to the two transport variants, we measured corticosterone metabolites non-invasively in excretions of the pullets. Fecal corticosterone metabolites have previously been used as a reliable indicator of adrenocortical activity [17].

The project was initiated by Switzerland's largest organic egg supplier—hosberg AG in Rüti—and was supported by two other Swiss-based companies—Wüthrich Brüterei AG in Belp and Prodavi AG in Schötz. Participation in "LTK (Institute of Laboratory Animal Sciences) Module 2: Training for Persons Responsible for Directing Animal Experiments" was required as a prerequisite for the intercantonal approval by the Swiss Cantonal Veterinary Office in Zurich, and the project was approved on 6 January 2016, under registration number ZH196/15. The study refers to Europe, with special emphasis on Switzerland.

**Table 1.** Comparison between Switzerland, Germany and Austria regarding maximum stocking densities of pullets and laying hens per pen, as well as minimum space requirements and maximum duration in the transit of pullets according to transnational (European Union, EU), federal, and label-specific regulations. STS = Swiss Animal Protection (“Schweizer Tierschutz”). All numbers in square brackets are references.

Regulation	Country level				
	Switzerland	Germany	Austria	EU	
	Federal	Federal	Federal	Label: Bio Austria	
	Label: Bio Suisse	Label: KAGfreiland	Label: Demeter, Bioland, Naturland		
Maximum Stocking Density Per Pen					
Pullets	No specification [4]	No specification [5]	3150 [6]	4800 [18]	4800 [20]
Layers	18,000 [4]	6000 [5]	3000 [6–8]	3000 [18]	3000 [20]
Transport					
Minimum Space in Transport Cage	160 cm <sup>2</sup> /kg for <3.0 kg [4]	200 cm <sup>2</sup> /kg for <1.0 kg 190 cm <sup>2</sup> /kg for <1.3 kg 180 cm <sup>2</sup> /kg for <1.6 kg 170 cm <sup>2</sup> /kg for <2.0 kg [5]	No specification [6–8]	180–200 cm <sup>2</sup> /kg for <1.6 kg 160 cm <sup>2</sup> /kg for <3.0 kg [18]	180–200 cm <sup>2</sup> /kg for <1.6 kg 160 cm <sup>2</sup> /kg for <3.0 kg [20]
Maximum Transport Duration	8 h [4]	No specification for pullets [5]	4 h [6–8]	No specification for pullets [18]	12 h [3]
	According to Transport Guideline of STS [9]	According to Transport Guideline of STS [10]	No specification for pullets [10]		



## 2. Animals, Materials and Methods

### 2.1. Experimental Design

The study was conducted with organically mixed-held pullets of two genetic lines—H&N Super Nick (HNS) and H&N Brown Nick (HNB)—of a commercial breeder and distributor (H&N International, Cuxhaven, Germany). Parent animals were imported to Switzerland and raised as organic laying hens. The experimental unit consisted of pullets and laying hens of 15 flocks, which were reared and kept according to the guidelines of Bio Suisse (Association of Swiss Organic Farming Organizations, Basel, Switzerland) [9] on free-range farms. Each rearing farm raised 4000 pullets, and farms of laying hens kept 2000 birds. The average ratio between HNS and HNB normally was 50:50 to 60:40. The transport to the farm of laying hens was realized at the age of 18 weeks. The study was based on two practically relevant commercial transport variants—with and without transportation break—which were categorized according to distance and length. Variant I “transport overnight” (transportation was performed with break) was compared with Variant II “direct transport” (transportation was performed without break). On average, 2014 birds were transferred on each transit. Each plastic crate (90.5 × 61.5 × 31.5 cm) was loaded with 16 pullets according to the Swiss Order on the Protection of Animals [4]. Because the start of loading also means the starting point of stress, we defined the time from the beginning of loading until the end of unloading as “time in plastic crate” or transport duration. Thus, the average transport duration was 13.5 h for Variant I and 5.0 h for Variant II, whereas the mean journey time alone was 2.6 h for Variant I and 1.0 h for Variant II (time on the road). Loading regularly began at 7 p.m. The legally prescribed transport duration was never exceeded [4]. We timed our investigation to include winter, spring, and summer.

Temperature was measured with HOBO U10 (temperature data loggers, Onset Computer Corporation, Bourne, MA, USA) inside of the stable at animal head height and during transportation inside of the plastic crates on the upper edge. For both transport variants, temperature was recorded during the whole investigation period every 10 min per flock. Means of minimum and maximum temperature values during the testing period (January until July) for Variant I ranged from 11.1 to 32.3 °C (rearing farm), 1.9 to 34.7 °C (transportation vehicle) and 3.8 to 34.1 °C (farm of laying hens) and for Variant II from 7.6 to 26.3 °C (rearing farm), −8.9 to 28.8 °C (transportation vehicle), and 6.1 to 26.2 °C (farm of laying hens).

Animal husbandry varied according to the individual farmer’s management.

### 2.2. Corticosterone Monitoring

To examine the effects of transportation and translocation on stress in each flock, corticosterone levels were measured non-invasively by extracting metabolites from bird droppings. For each sampling time point, 25 pullets of each genetic line were randomly caught from different tiers of the dimmed barn. To enable the collection of individual, spontaneously voided droppings, the pullets were placed separately in cleaned and disinfected plastic crates, and marked on their legs with a pen (Edding-Egg-Color-Pen, Wunstorf, Germany). Samples were collected within 1 h of the experimenter entering the barn according to Rettenbacher et al. [21], who found a first major peak 1 h after a stress pulse in laying hens. One dropping per bird was collected immediately after defecation, put into frost-resistant plastic bags and frozen on dry ice at a usual temperature of −78.5 °C. Droppings were transferred to a freezer after sampling. To determine baseline concentrations, pullets were sampled at 9:00 a.m., two days before transportation. For measurements of transportation and translocation stress, further droppings in both variants were collected 0 h, 3 h, 6 h, 10 h, 24 h, 48 h and 72 h after transportation. Initially, the flocks had been sampled 9 h and 12 h (instead of 10 h) after transportation. However, at these time points, only a few (if any) birds defecated. To prevent an unworkable additional work load and a possible violation of the numerical limit of permitted experimental birds, we decided to collect samples 10 h after transportation. Taking the circadian rhythm into account, flocks of Variant

II were sampled additionally 34 h and 58 h after transportation. Altogether, 5751 droppings were collected and analyzed.

In the laboratory, 0.5 g of each sample was suspended in 5 mL of 60% (*v/v*) methanol by shaking for 30 min on a multi-vortex (RapidVap, Labconco, Kansas City, MO, USA) [22]. When a smaller portion had to be used, an aliquot of methanol was added. After centrifugation (GS-6KR Centrifuge, Beckman, Krefeld, Germany) for 15 min, aliquots of the supernatant were diluted 1:10 with assay buffer, and concentrations of fecal corticosterone metabolites (CM) were determined with a cortisone enzyme immunoassay [21]. The applied method has been validated physiologically and biologically for chickens by Rettenbacher et al. [21,23].

### 2.3. Hen-Human Relationship: Touch Test

The level of fear of humans is an important determinant of welfare of pullets and laying hens. Regular handling of pullets is fear reducing [24], and positive additional human contact of laying hens reduces their fear level and influences their corticosterone level in blood positively [25]. In contrast, fear-inducing humans reduce the wellbeing of animals [26]. Accordingly, we tested each flock on avoidance and approach behavior by using the touch test of Raubek et al. [27] to assess the birds' reaction to an unfamiliar human. The test was performed with each flock by the same test person, who was unfamiliar to the flock before test. The test person wore protective clothing such as a blue overall, plastic overshoes and a hair cloth. Tests were carried out in the roofed outdoor run area (winter garden) of the rearing farm. Entering the winter garden was the initial contact between flock and test person. The unfamiliar test person moved slowly—one step per second—through the winter garden, approached a group of at least three pullets, squatted for 10 s and then counted all pullets within one arm's length around her. Thereafter, the test person tried to touch one bird after the other. The test was carried out until 33 groups were examined. Any attempt to approach a group or squat down was counted, even if all pullets retreated from the test person [28].

### 2.4. Body Condition

The body condition of the birds was evaluated by scoring the plumage and integuments before and after transportation, following feces sampling and the touch test. The assessment basis was the LayWel grading scheme [29] modified according to Schwarzer et al. [30] for pullets. Plumage condition was divided into four degrees of severity (4 = no damage, 3 = 1–5 damaged feathers, 2 = >5 damaged feathers, 1 = plucked area >1 cm). A higher score equaled a better plumage condition. This was assessed on seven individually scored body areas, resulting in a maximum pooled score of 28. Damage of flight feathers, tail feathers, and the presence of fault bars were evaluated separately with binary scores (0 = negative and 1 = positive). Originating from a total plumage score of 28, a bad feather cover was indicated by ≤11–14, and a good feather condition by ≥18–20. Injuries were divided into three degrees of severity (0 = negative, 1 = Ø ≤0.5 cm, 2 = Ø >0.5 cm) on 10 individually scored body areas. Injuries of the comb, head and eyelid were evaluated separately with binary scores (0 = negative and 1 = positive).

### 2.5. Live Weight

To check minimum body weight, which is 1300 g for HNS and 1479 g for HNB at the age of 18 weeks (according to the breeder and distributor H&N International), 50 numerically marked birds, 25 per line, were weighed during loading. To check a possible transport-related weight reduction due to water and feed withdrawal and “time in plastic crates,” we compared body weights before and after transportation (following sampling) for each hen. Results were compared with a control flock that was not transported and was kept overnight in the winter garden without access to water and feed but were free to move around; hens of the control flock were weighed in the evening (8:00 p.m.) and in the morning (7:00 a.m.). For evaluation, the weight of the same numerically marked bird was compared in each case. Weight determination was carried out with a BAT1 poultry scale (VEIT Electronics,

Moravany, Czech Republic). The 50 hens of the transport study were divided into four transport crates. To ensure a regular number of 16 birds per crate according to the Swiss Order on the Protection of Animals [4], the transport crates were supplemented with non-weighed birds.

## 2.6. Statistical Analysis

For the statistical analysis, the relationships between the predictors (transport variant, layer line, flock) and the response variables (baseline CM concentration, CM concentration after transport, returned to baseline value after 72 h, and difference in plumage score before and after transport, transport weight) were analyzed simultaneously using mixed-effects models. The flock was modeled as an unstructured random effect for the model constant (intercept), and the transport variant and the layer line were modeled as ordinary fixed effects. For the continuous response baseline CM concentration, CM concentration after transport, difference in plumage score before and after transport, and transport weight, normal distributions were chosen as observation models. For the binary outcome return to baseline value after 72 h, a logistic regression model was used. Results from this analysis were expressed as odds ratios (OR). For baseline CM concentration, temporal progression was also considered by including time as an unstructured random effect (in contrast to a temporal effect, because of very few unequally distributed time points).

Data were analyzed by using the statistical programming language R [31]. All (generalized) mixed-effects models were estimated by the integrated nested Laplace approximation approach [32] within a fully Bayesian setup.

## 3. Results

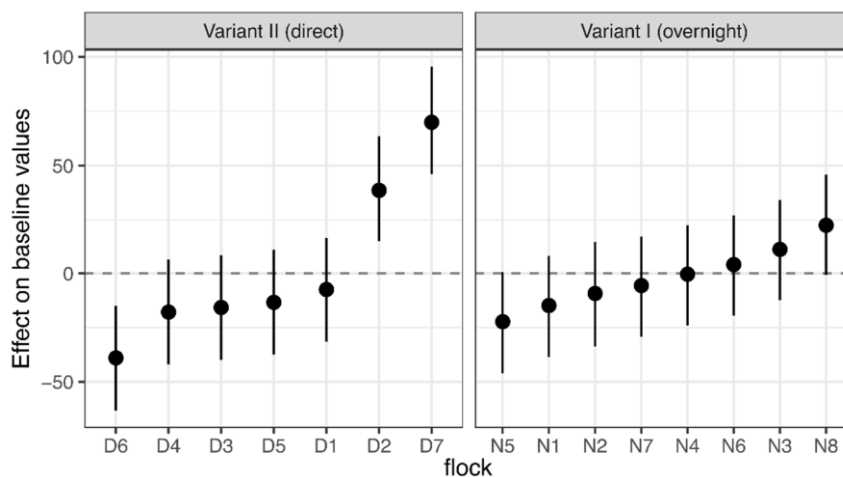
### 3.1. Corticosterone Monitoring

Mean baseline concentrations of excreted CM in the examined flocks were 43 ng/g and 66 ng/g for Variant I and Variant II, respectively. Overall, birds of Variant II had higher baseline values than birds of Variant I (Table 2). However, differences were not significant (effect:  $-18.6$ ; 95% confidence interval (CI):  $(-45.3; 9.1)$ ).

**Table 2.** Comparison of baseline levels (mean  $\pm$  SEM) of corticosterone metabolites measured in transport Variants I and II in H&N Super Nick (HNS) and H&N Brown Nick (HNB) animals, and in total for both layer lines.

Variant	Line	Baseline Value (ng/g)	SEM (ng/g)	Baseline Value Total (ng/g)	SEM (ng/g)
I	HNS	57	3	43	2
	HNB	30	2		
II	HNS	93	8	66	4
	HNB	40	3		

HNB individuals had significantly lower baseline values than HNS birds (effect:  $-37.8$ ; 95% CI:  $(-45.4; -30.3)$ ). Three flocks showed significant deviations from mean baseline values in Variant II: two flocks with significant above-average values (D2 and D7) and one with significantly lower values (D6). Any effect that crossed zero did not significantly deviate from the mean baseline value in this flock (Figure 1).



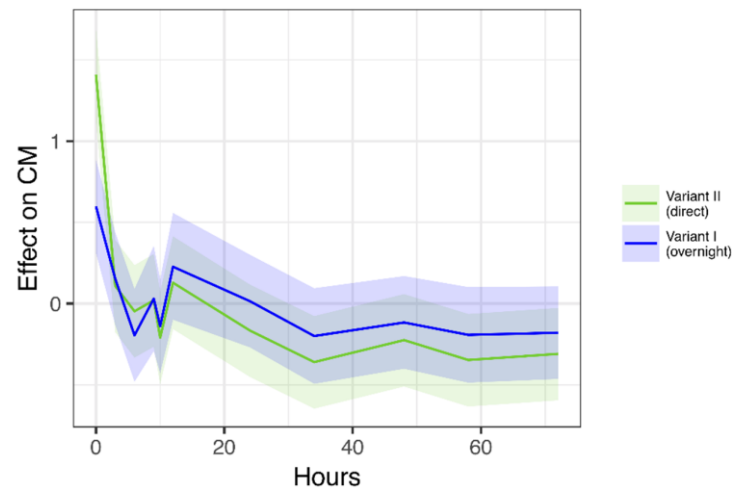
**Figure 1.** Linear mixed-effects model. Effect of the flock on the baseline concentrations of corticosterone metabolites in either two transport variants, modeled with the flock as an unstructured random effect for the model constant, and with the transport variant and the layer line as fixed effects. The figure shows estimated values (circles) with their 95% confidence intervals (bars) of the effect of flock on baseline concentrations. Estimates that do not cross zero deviate significantly from the baseline concentration.

The transit from the rearing farm to the farm of the laying hens resulted in higher mean concentrations of CM compared with the mean baseline values. The highest values were found immediately on arrival (0 h). The mean concentration at 0 h was 173 ng/g and 323 ng/g for Variant I and Variant II, respectively. CM concentrations decreased rapidly during the 0–6 h interval after transportation. Variant I showed an increase during the 6–12 h interval, followed by a steady decline. Values for Variant II were slightly increased at 24 h, 48 h, and 72 h, and slightly decreased at 34 h and 58 h, with the additional sampling times considering the circadian rhythm (Table 3).

**Table 3.** Minimum (Min), maximum (Max), and mean concentrations  $\pm$  SEM of corticosterone metabolites (CM) after transportation in two transport variants.

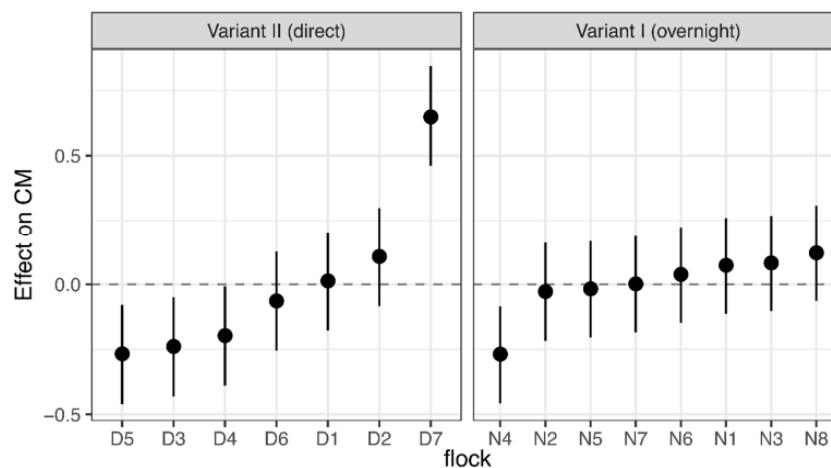
Variant	Hours after Transportation	Min CM (ng/g)	Max CM (ng/g)	Mean CM (ng/g)	SEM (ng/g)
I	0	4	1337	173	22
	3	4	570	111	7
	6	3	440	61	7
	9	5	568	96	5
	10	4	459	69	6
	12	11	315	128	3
	24	4	786	92	4
	48	3	402	73	3
	72	2	245	64	3
II	0	4	2215	323	11
	3	4	967	134	5
	6	3	992	112	3
	10	4	590	89	11
	24	5	632	95	4
	34	4	307	67	9
	48	5	462	86	5
	58	4	330	69	3
	72	4	456	74	2

We found no significant difference in CM concentrations between Variant I and Variant II, because the overall trend was similar, and confidence intervals overlapped strongly (effect:  $-0.208$ ; 95% CI:  $(-0.567; 0.163)$ ) (Figure 2).



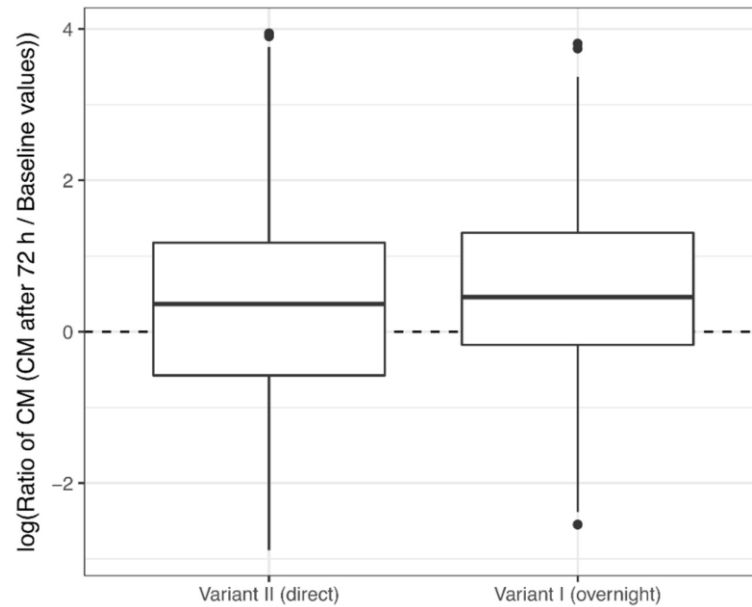
**Figure 2.** Linear mixed-effects model. Effect of time after transportation (hours) on concentrations of corticosterone metabolites (CM), considering the flock as a random effect, and the transport variant and the layer line as fixed effects. Estimated temporal progression of CM concentrations, shown as estimated effects (solid lines) and 95% confidence intervals (shaded areas) for each transport variant.

Significant differences in CM concentrations were found once again between the layer lines. HNS had higher values than HNB (effect:  $-0.286$ ; 95% CI:  $(-0.334; -0.238)$ ). Furthermore, considerable variations among flocks were found. Significant above-average values could be measured for one flock of Variant II (D7), significantly lower values for three flocks of Variant II (D5, D3 and D4), and one flock of Variant I (N4) during the 0–72 h interval. Any effect that crosses zero does not significantly deviate from the mean CM concentration in this flock (Figure 3).



**Figure 3.** Linear mixed-effects model. Effect of the flock on concentrations of corticosterone metabolites (CM) 0–72 h after transportation in either two transport variants, modeled with the flock as an unstructured random effect for the model constant, and with the transport variant and the layer line as fixed effects. The figure shows estimated values (circles) with their 95% confidence intervals (bars) of the effect of flock on CM concentrations. Estimates that do not cross zero deviate significantly from the mean value.

The ratio of CM concentrations after 72 h to CM baseline values showed that most CM concentrations did not return to baseline values in both transport variants (Figure 4). For both layer lines, we could not find a significant effect of transport variant on the return to baseline values (effect: 0.43; 95% CI: (−2.41; 3.26) and −1.49; 95% CI: (−4.34; 1.37) for HNS and HNB, respectively).



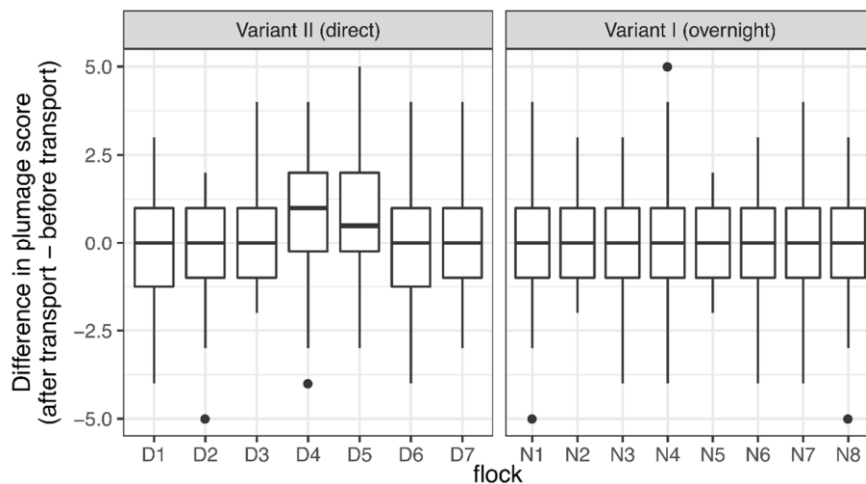
**Figure 4.** Ratio of concentrations of corticosterone metabolites (CM) after 72 h to CM baseline concentrations in two transport variants. Thick black lines show mean ratios, boxes represent upper and lower quartiles, whiskers represent 95% confidence intervals, and dots show outliers. A mean ratio above zero indicates an increase in CM concentration relative to the baseline value, whereas a mean ratio below zero indicates a decrease.

### 3.2. Hen-Human Relationship: Touch Test

With the touch test, we evaluated the hen–human relationship based on the approach and avoidance behavior of the birds between flocks. To evaluate whether this behavior was reflected in the measured CM concentrations, we compared CM concentrations between hens that stayed an arm length away from the examiner, and those that could be touched. An increase in CM concentration by one unit (1.0 ng/g) resulted in a significantly greater number of hens that could be touched (effect: 0.004; 95% CI: (0.001; 0.006)). In addition, a few differences in approach and avoidance behavior between flocks were found: One flock (D5) had significantly fewer hens that could be touched compared with three other flocks (D2, D6, and N2).

### 3.3. Body Condition

The examined flocks of both transport variants showed an average plumage score of  $24.62 \pm 1.37$  (mean  $\pm$  SD) before and after transportation, indicating a good feather condition (maximum possible score = 28, for seven body areas with four degrees of severity). Flocks D4 and D5 of Variant II had a better plumage score after transportation than before (Figure 5).



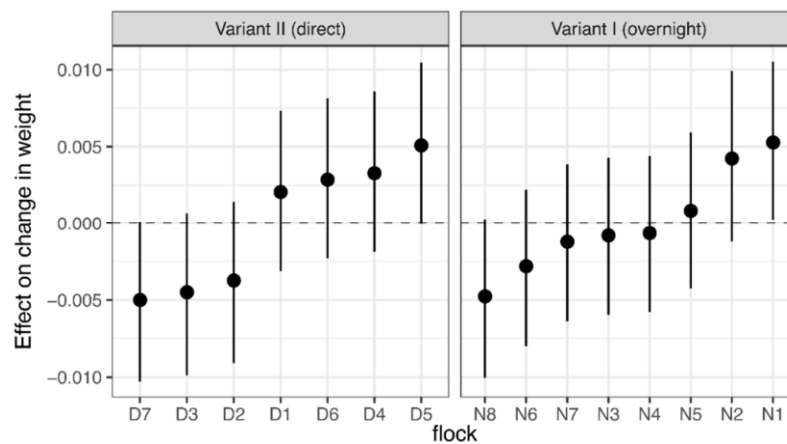
**Figure 5.** Difference across flocks in plumage score before and after transportation in two transport variants. Thick black lines show mean values, boxes represent upper and lower quartiles, whiskers represent 95% confidence intervals, and dots show outliers. A mean value above zero indicates a better plumage score after than before transportation.

Altogether, we found no significant differences in the plumage condition of the body areas scored with four degrees of severity before and after transportation, regardless of layer line, transport variant or flock, with one exception: HNB in comparison with HNS showed less plumage deterioration ( $-0.28$ , 95% CI:  $(-0.8; 0.25)$ ) in Variant I, and in Variant II, greater deterioration ( $0.35$ , 95% CI:  $(-0.03; 0.73)$ ). The total plumage score, including those body areas scored with two forms of severity (flight and tail feathers, fault bars) apparently significantly improved after transportation compared with before transportation in Variant II (OR:  $0.672$ ; 95% CI:  $(0.53; 0.863)$ ) but not in Variant I (OR:  $1.454$ ; 95% CI:  $(0.931; 2.218)$ ). Integument injuries of body areas scored with three degrees of severity were not sufficiently variable in their distribution of characteristics, and only isolated injuries were found. The same applies for integument injuries of the eyelid (binary score). Both comb and head (evaluated with a binary score) were scored positive in 13% and 4% of the cases, respectively. We could find no major differences in integument injuries before and after transportation.

Following the transit from the rearing farm to the farm of laying hens, the birds showed a weight loss of  $-2.9\% \pm 1.9\%$  (mean  $\pm$  SD). Comparing both transport variants, birds of Variant I lost significantly more weight (2.1 percentage points; 95% CI:  $(-2.6; -1.5)$ ) than birds of Variant II. Regarding the layer lines, HNB lost significantly less weight than HNS (0.5 percentage points; 95% CI:  $(0.3; 0.7)$ ). Considering the transport variants, differences in weight loss between layer lines can solely be found for Variant II: HNS showed higher loss in weight ( $-2.38\% \pm 1.46\%$ ) compared with HNB ( $-1.3\% \pm 0.71\%$ ) (effect:  $-0.01603$ ; 95% CI:  $(-0.02026; -0.01180)$ ). Differences in relative weight losses between flocks hardly existed (Figure 6). None of the mean temperature variables on the rearing farm, the transport vehicle, and the farm of laying hens showed a significant effect on the change in body weight.

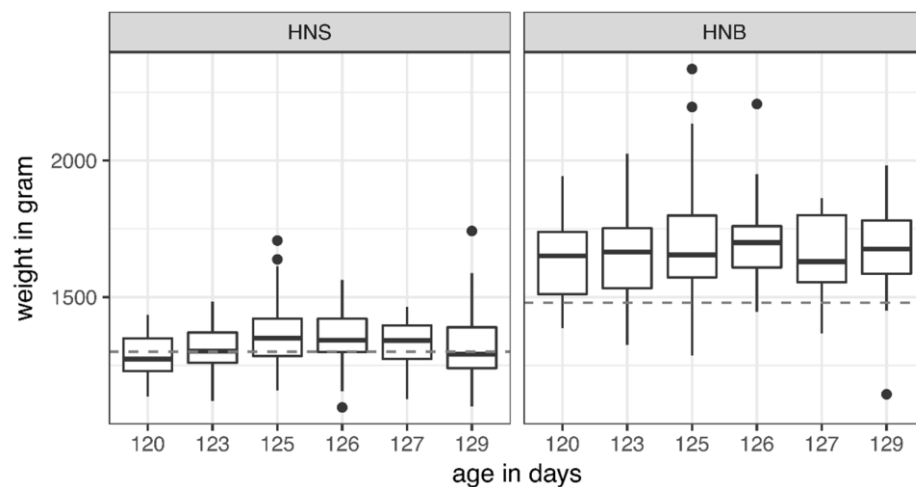
Birds of the control flock, which were not transported and were kept in the winter garden overnight, free to move around without access to food and water, showed a mean weight loss of  $-5.9\%$  (95% CI:  $(-6.3; -5.6)$ ). HNB hens of the control flocks lost significantly less weight ( $-5.4\%$ ; 95% CI:  $(-5.8; -5.0)$ ) than HNS hens ( $-6.5\%$ ; 95% CI:  $(-6.9; -6.1)$ ). Comparing the weights of all birds (study and control flocks) calculated as means, birds of the control flock showed on average a higher loss of  $-2.0\%$  (95% CI:  $(-2.5; -1.6)$ ) than birds of the study flocks.





**Figure 6.** Linear assorted regression model. Estimated body weight differences across flocks before and after transportation in two transport variants, considering the factors of the layer line, the transport variant, and the average temperature on the rearing farms. The figure shows estimates (solid circles) and 95% confidence intervals (bars) of the effect of flocks on body weight changes. Estimates that cross zero do not deviate significantly from the mean values.

The target weight of the 18-week-old pullets, which is defined by the breeder and distributor H&N International, is set at 1300 g for HNS and 1479 g for HNB. It was not reached by all weighed hens: HNS hens weighed on average  $1339 \pm 102$  g (mean  $\pm$  SD), and HNB hens  $1679 \pm 156$  g. With age included, no differences could be found within each layer line in reaching the target weight (Figure 7). The only significant effect was the effect of the layer line. The chance of HNS observing a shortfall was on average elevated by a factor of 8.1 (95% CI: (5.1; 12.7)).



**Figure 7.** Body weight before transportation in two layer lines, according to age in days. Thick black lines show mean values, boxes represent upper and lower quartiles, whiskers represent 95% confidence intervals, and dots show outliers. The dashed lines represent the target weight according to H&N International for layer lines H&N Super Nick (HNS; 1300 g) and H&N Brown Nick (HNB; 1479 g).

#### 4. Discussion

To the best of our knowledge, this is the first study comparing two practice-oriented transport variants for pullets over a period of 72 h via fecal CM. The aim of the study was to evaluate which of the two examined transport variants resulted in less pronounced stress responses of the birds.



Measurements of CM, a reliable indicator of stress [17], showed no significant transport-specific difference between Variants I and II. Instead, we discovered significant differences between the layer lines in CM responses, touch test results, and weight loss. Several studies have already shown differences between white and brown hens; for example, differences in plasma corticosterone responses after a treatment [33], in tonic immobility [34–37], or in results from other fear tests [38,39].

#### 4.1. Corticosterone Monitoring

Baseline values of CM concentrations and values measured between 0 h and 72 h after transportation did not show significant differences between the two transport variants. Instead, we found significant differences between the two layer lines in both baseline values and values measured after transportation. However, other studies found similar baseline plasma corticosterone concentrations in brown and white layer lines [33,40]. One study analyzed translocation stress in ISA Brown (name of hybride) hens for 36 h after a 1 h long transportation, and found the highest plasma corticosterone concentrations 4 h after transportation [23]. In contrast to this finding, the HNS and HNB hens of our study showed a rapid decrease in CM concentration during the first 6 h after transportation, but just a few returned to baseline values at the end of the study, which might be due to the novel environment. HNS had higher CM levels than HNB at all times in almost every flock. Fraisse and Cockrem [33] reported similar results after 15 min of repeated handling. White hens of their study also showed higher corticosterone levels than brown hens, but only for plasma corticosterone, whereas fecal CM concentrations did not differ between layer lines. At 9 h and 12 h after transportation, CM concentrations in Variant I of our study showed an increase from 61 ng/g at 6 h after transportation, to 96 ng/g and 127 ng/g, respectively, with an intermittent decrease at 10 h (69 ng/g), followed by a steady decline (Table 3). Samples at 9 h and 12 h were taken solely from Flocks N1 and N2; for Flocks N3 to N8, we reduced the sample collection to once at 10 h after transportation. During the investigation period of 72 h, CM concentrations never fell below the value measured 6 h after transportation. In Variant II, we found slight fluctuations of CM concentrations at 34 h and 58 h (additionally taken samples), indicating natural variation due to the circadian rhythm during a 24 h interval. De Jong et al. [41] found a plasma corticosterone peak at 4 h of the 8 h light period during a 24 h investigation on 5-week-old broilers that were fed ad libitum and showed low plasma corticosterone levels during the dark period for 12 h. This finding is contrary to the results from Variant II of our study because samples at 24 h, 48 h and 72 h were taken during the dark period (between 11:00 p.m. and midnight) and samples at 34 h and 58 h were taken during the light period (9–10:00 a.m.). Differences between individual flocks might be attributed to the so-called “passage effect”: Management and processes of transportation, for example, differed. Further investigations are necessary to better understand these differences.

#### 4.2. Hen-Human Relationship: Touch Test

The relationship between animals and humans is an important aspect of animal welfare. Additional contact to humans can positively influence the hen–human relationship [28]. Studies on laying hens showed that additional positive contact with a person resulted in reduced fear toward this person [25,28,42] and in a decrease of plasma corticosterone levels [25]. The pullets of our study behaved contrarily to these findings: Pullets with increased CM concentrations were more likely to allow touch by the test person than pullets with low CM concentrations. Four flocks deviated from the average test results. However, these flocks did not show deviations in any of the other study parts. We therefore cannot relate the tameness of these flocks to other test results of this study.

#### 4.3. Body Condition

The examined flocks were in good condition before and after transportation, as measured by the use of the sum of the body parts that were individually scored for plumage condition and integument injuries [43]. With regard to the temporal effect (before and after transportation), we noted a slight

improvement to both the plumage and integuments. The main reason is likely to be an insufficient sample size, to ensure that representative estimates and observer deviations are conceivable.

Birds lose weight overnight, even without transportation, and this has potential side effects such as increased corticosterone levels or heat stress, as results from our control flock show. Birds of the control flock were able to move around in the winter garden without access to food and water, matching the lack of these resources for transported birds. “Time in winter garden” for the control flock was 11 h, and this is thus based on the “time in plastic crates” of Variant I. Several studies describe a diurnal and seasonal weight fluctuation in wild birds (e.g., [44–47]) with amplitudes of 5–15% [44,45,47]. The weight loss of the hens of our control flock (−5.9%) falls within this range. However, a mean loss of  $-3.9\% \pm 1.8\%$  overnight, as measured for the transported hens of Variant I, is lower than the loss measured in wild birds. Amplitudes in winter (long and colder nights) are higher than in summer [47]. The mean temperature during transport of the studied flocks was 16 °C, whereas the mean outside temperature for the control flock was 19.5 °C. Unfortunately, none of our other study experiments were performed on the control flock. Explanations therefore remain speculative. Scholtyssek et al. [48] found an greater loss of weight in broilers with increasing durations of transportation (1.3%, 2.3%, and 3.1% after transit durations of 1.5 h, 3.0 h and 4.5 h, respectively) whereas another study did not find weight differences between the control and 4 h transported treatment groups [40].

## 5. Conclusions

Our findings prove that no significant differences exist between the two studied transport variants. This conclusion may be supported by further investigations. Considering the tested flocks, we can say that both transport variants exerted a similar level of stress on the birds. Significant differences between the two layer lines indicated that HNS hens would benefit from transportation in the short variant, whereas stress levels in HNB hens were similar in both variants. Nonetheless, we cannot say whether a longer time of transportation exerts more and longer lasting negative impacts than a shorter period of transportation. Future studies comparing weight development or egg production and egg weight between both transport variants could help to answer the remaining questions.

**Author Contributions:** Conceptualization, H.S. and S.B.; Formal analysis, P.S.; Investigation, H.S. and S.B.; Methodology, R.P.; Project administration, H.S. and S.B.; Supervision, H.S., M.E. and S.B.; Visualization, H.S.; Writing—original draft, H.S.

**Funding:** This research was funded by three companies in Switzerland: hosberg AG, Wüthrich Brüterei AG, and Prodavi AG.

**Acknowledgments:** We would like to thank Alfred Reinhard, founder of hosberg AG, for the opportunity to conduct this study. Likewise, we acknowledge the entire staff of hosberg AG, as well as the support of Wüthrich Brüterei AG and Prodavi AG, which funded and supported the investigation. Finally, we thank Verena Lietze for the professional language editing of the manuscript.

**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflict of interest. The funders had no role in the design of the study; in the collection, analyses, or interpretation of data; in the writing of the manuscript; and in the decision to publish the results.

## References

1. World Organisation for Animal Health. Terrestrial Animal Health Code. Available online: <http://www.oie.int/international-standard-setting/terrestrial-code/> (accessed on 19 October 2017).
2. Bär, M. Wer warum bio kauft. *Bioaktuell* **2011**, *1*, 1–2.
3. European Council. Council Regulation (EC) No 1/2005 of 22 December 2004 on the protection of animals during transport and related operations and amending Directives 64/432/EEC and 93/119/EC and regulation (EC) No 1255/97. *Off. J. Eur. Union* **2004**, *3*, 1–44.
4. Animal Welfare Regulation of 23 April 2008 (Status as of 1 May 2017), AS 2008 2985. Switzerland. 2008. Available online: <https://www.admin.ch/opc/de/classified-compilation/20080796/201705010000/455.1.pdf> (accessed on 21 November 2017).

5. Animal Transportation Regulation of 11 February 2009 (BGBl. I S. 375), Amended by Article 9 (14) of the Regulation of 3 December 2015 (BGBl. I S. 2178). Germany. 2015. Available online: [https://www.gesetze-im-internet.de/tierschtrv\\_2009/BJNR037500009.html](https://www.gesetze-im-internet.de/tierschtrv_2009/BJNR037500009.html) (accessed on 5 December 2017).
6. Demeter Standards of 1 October 2017. Germany. 2017. Available online: [https://www.demeter.de/sites/default/files/richtlinien/richtlinien\\_gesamt.pdf](https://www.demeter.de/sites/default/files/richtlinien/richtlinien_gesamt.pdf) (accessed on 5 December 2017).
7. Bioland Standards of 28 November 2017. Germany. 2017. Available online: [https://www.bioland.de/fileadmin/dateien/HP\\_Dokumente/Richtlinien/Bioland\\_Richtlinien\\_28\\_Nov\\_2017.pdf](https://www.bioland.de/fileadmin/dateien/HP_Dokumente/Richtlinien/Bioland_Richtlinien_28_Nov_2017.pdf) (accessed on 5 December 2017).
8. Naturland Standards of May 2017. Germany. 2017. Available online: [https://www.naturland.de/images/Naturland/Richtlinien/Naturland-Richtlinien\\_Erzeugung.pdf](https://www.naturland.de/images/Naturland/Richtlinien/Naturland-Richtlinien_Erzeugung.pdf) (accessed on 5 December 2017).
9. Bio Suisse. Richtlinien für die Erzeugung, Verarbeitung und den Handel von Knospe-Produkten. Available online: [https://www.bio-suisse.ch/media/VundH/Regelwerk/2018/DE/rl\\_2018\\_1.1\\_d\\_gesamt\\_11.12.2017.pdf](https://www.bio-suisse.ch/media/VundH/Regelwerk/2018/DE/rl_2018_1.1_d_gesamt_11.12.2017.pdf) (accessed on 17 October 2018).
10. KAGfreiland-Livestock-Standards 2017. Switzerland. 2017. Available online: [https://www.kagfreiland.ch/images/BAUERN\\_PRODUKTE/Label/Infos\\_KAG-Bauern/KAG\\_RL2017.pdf](https://www.kagfreiland.ch/images/BAUERN_PRODUKTE/Label/Infos_KAG-Bauern/KAG_RL2017.pdf) (accessed on 5 December 2017).
11. Schweizer Tierschutz. Transport von Gross- und Kleinvieh: Richtlinie für die Überwachung durch den Kontrolldienst des Schweizer Tierschutz STS vom 1. Available online: [https://www.viehhandel-schweiz.ch/fileadmin/files/Haendlerinfos-Weiteres/Richtlinien\\_Tiertransporte\\_GrossKleinvieh\\_2018.pdf](https://www.viehhandel-schweiz.ch/fileadmin/files/Haendlerinfos-Weiteres/Richtlinien_Tiertransporte_GrossKleinvieh_2018.pdf) (accessed on 17 October 2018).
12. Freeman, B.M. The Stress Syndrome. *Worlds Poult. Sci. J.* **1987**, *43*, 15–19. [[CrossRef](#)]
13. Mitchell, M.A.; Kettlewell, P.J. Physiological stress and welfare of broiler chickens in transit: Solutions not problems! *Poult. Sci.* **1998**, *77*, 1803–1814. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. Mitchell, M.A.; Kettlewell, P.J. Catching and transport of broiler chickens. *Proc. Fourth Eur. Symp. Poult. Welf.* **1993**, 219–229.
15. Mitchell, M.A.; Kettlewell, P.J. Road transportation of broiler chickens: Induction of physiological stress. *Worlds Poult. Sci. J.* **1994**, *50*, 57–59. [[CrossRef](#)]
16. Scott, G.B. Poultry handling: A review of mechanical devices and their effect on bird welfare. *Worlds Poult. Sci. J.* **1993**, *49*, 44–57. [[CrossRef](#)]
17. Beuving, G.; Vonder, G.M.A. Comparison of the adrenal sensitivity to ACTH of laying hens with immobilization and plasma baseline levels of corticosterone. *Gen. Comp. Endocrinol.* **1986**, *62*, 353–358. [[CrossRef](#)]
18. Animal transportation law of 31 July 2007 (status as of 16 January 2016). Austria. 2017. Available online: <https://www.ris.bka.gv.at/GeltendeFassung.wxe?Abfrage=Bundesnormen&Gesetzesnummer=20005398> (accessed on 8 April 2018).
19. Bio Austria standards of May 2017. Austria. 2017. Available online: [https://www.bio-austria.at/app/uploads/BIO-AUSTRIA\\_Produktionsrichtlinien\\_201803.pdf](https://www.bio-austria.at/app/uploads/BIO-AUSTRIA_Produktionsrichtlinien_201803.pdf) (accessed on 8 April 2018).
20. European Council. Council Regulation (EC) No 889/2008 of 5 September 2008 laying down detailed rules for the implementation of Council Regulation (EC) No 834/2007 on organic production and labelling of organic products with regard to organic production, labelling and control. *Off. J. Eur. Union.* **2008**, *250*, 1–84.
21. Rettenbacher, S.; Möstl, E.; Hackl, R.; Ghareeb, K.; Palme, R. Measurement of corticosterone metabolites in chicken droppings. *Br. Poult. Sci.* **2004**, *45*, 704–711. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
22. Palme, R.; Touma, C.; Arias, N.; Dominchin, M.F.; Lepschy, M. Steroid extraction: Get the best out of faecal samples. *Wien. Tierärztliche Monatsschr.* **2013**, *100*, 238–246.
23. Rettenbacher, S.; Palme, R. Biological validation of a non-invasive method for stress assessment in chickens. *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.* **2009**, *122*, 8–12. [[PubMed](#)]
24. Jones, R.B. Regular handling and the domestic chick's fear of human beings: Generalisation of response. *Appl. Anim. Behav. Sci.* **1994**, *42*, 129–143. [[CrossRef](#)]
25. Barnett, J.L.; Hemsworth, P.H.; Hennessy, D.P.; McCallum, T.H.; Newman, E.A. The effects of modifying the amount of human contact on behavioural, physiological and production responses of laying hens. *Appl. Anim. Behav. Sci.* **1994**, *41*, 87–100. [[CrossRef](#)]
26. Hemsworth, P.H. Human–animal interactions in livestock production. *Appl. Anim. Behav. Sci.* **2003**, *81*, 185–198. [[CrossRef](#)]

27. Raubek, J.; Niebuhr, K.; Waiblinger, S. Development of on-farm methods to assess the animal-human relationship in laying hens kept in non-cage systems. *Anim. Welf.* **2007**, *16*, 173–175.
28. Graml, C.; Waiblinger, S.; Niebuhr, K. Validation of tests for on-farm assessment of the hen–human relationship in non-cage systems. *Appl. Anim. Behav. Sci.* **2008**, *111*, 301–310. [[CrossRef](#)]
29. Tauson, R.; Elwinger, K.; Holm, K.-E.; Wall, H. Welfare Implications of Changes in Production Systems for Laying Hens, deliverables d.3.2–d.3.3., work Package 3, Health. Available online: <http://www.laywel.eu/web/pdf/deliverables%2031-33%20health.pdf> (accessed on 17 August 2018).
30. Schwarzer, A.; Louton, H.; Erhard, M.H. Vorstellung Junghennen. In *Tagung der DVG-Fachgruppen Umwelt-und Tierhygiene im Rahmen des DVG-Vet-Congresses am 12*; Estrel Convention Center Berlin: Berlin, Germany, 2015; Volume 74.
31. *R Core Team: A Language and Environment for Statistical Computing*; R Foundation for Statistical Computing: Vienna, Austria, 2017; Available online: <http://www.R-project.org/> (accessed on 10 April 2017).
32. Rue, H.; Martino, S.; Chopin, N. Approximate Bayesian inference for latent Gaussian models by using integrated nested Laplace approximations. *J. R. Stat. Soc. Ser. B* **2009**, *71*, 319–392. [[CrossRef](#)]
33. Fraisse, F.; Cockrem, J.F. Corticosterone and fear behaviour in white and brown caged laying hens. *Br. Poult. Sci.* **2006**, *47*, 110–119. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
34. Gallup, G.G.J.; Ledbetter, D.H.; Maser, J.D. Strain differences among chickens in tonic immobility: Evidence for an emotionality component. *J. Comp. Physiol. Psychol.* **1976**, *90*. [[CrossRef](#)]
35. Jones, R.B.; Faure, J.M. Sex and strain comparisons of tonic immobility (“righting time”) in the domestic fowl and the effects of various methods of induction. *Behav. Process.* **1981**, *6*, 47–55. [[CrossRef](#)]
36. Albentosa, M.J.; Kjær, J.B.; Nicol, C.J. Strain and age differences in behaviour, fear response and pecking tendency in laying hens. *Br. Poult. Sci.* **2003**, *44*, 333–344. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
37. Mahboub, H.D.H.; Müller, J.; Von Borell, E. Outdoor use, tonic immobility, heterophil/lymphocyte ratio and feather condition in free-range laying hens of different genotype. *Br. Poult. Sci.* **2004**, *45*, 738–744. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
38. De Haas, E.N.; Kemp, B.; Bolhuis, J.E.; Groothuis, T.; Rodenburg, T.B. Fear, stress, and feather pecking in commercial white and brown laying hen parent-stock flocks and their relationships with production parameters. *Poult. Sci.* **2013**, *92*, 2259–2269. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
39. Uitende Haag, K.A.; Rodenburg, T.B.; Komen, H.; Kemp, B.; Van Arendonk, J.A.M. The association of response to a novel object with subsequent performance and feather damage in adult, cage-housed, pure-bred Rhode Island Red laying hens. *Poult. Sci.* **2008**, *87*, 2486–2492. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
40. Cheng, H.W.; Jefferson, L. Different behavioral and physiological responses in two genetic lines of laying hens after transportation. *Poult. Sci.* **2008**, *87*, 885–892. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
41. de Jong, I.C.; van Voorst, A.S.; Erkens, J.H.F.; Ehlhardt, D.A.; Blokhuis, H.J. Determination of the circadian rhythm in plasma corticosterone and catecholamine concentrations in growing broiler breeders using intravenous cannulation. *Physiol. Behav.* **2001**, *74*, 299–304. [[CrossRef](#)]
42. Graml, C.; Niebuhr, K.; Waiblinger, S. Reaction of laying hens to humans in the home or a novel environment. *Appl. Anim. Behav. Sci.* **2008**, *113*, 98–109. [[CrossRef](#)]
43. Tauson, R.; Kjaer, J.; Maria, G.A.; Cepero, R.; Holm, K.E. The Creation of A Common Scoring System for the Integument and Health of Laying Hens. Applied Scoring Of Integument And Health In Laying Hens. Available online: <http://www.laywel.eu> (accessed on 17 August 2017).
44. King, J.R. Adaptive periodic fat storage by birds. *Proc. Int. Ornithol. Congr.* **1972**, *15*, 200–217.
45. Clark, G.A. Body weights of birds: A review. *Condor* **1979**, *81*, 193–202. [[CrossRef](#)]
46. Haftorn, S. Seasonal and diurnal body weight variations in titmice, based on analyses of individual birds. *Wilson Bull.* **1989**, *101*, 217–235.
47. Lehtikoinen, E. Seasonality of the daily weight cycle in wintering passerines and its consequences. *Ornis Scand.* **1987**, *18*, 216–226. [[CrossRef](#)]
48. Scholtyssek, S.; Ehinger, F. Transporteinflüsse auf Broiler und deren Schlachtkörper. *Arch. Geflügelk.* **1976**, *40*, 27–35.



© 2018 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).



## 5 **Erweiterte Diskussion**

Die vorliegende Untersuchung zeigt keinen signifikanten Unterschied zweier miteinander verglichener Transportvarianten. Wie in vorangegangenen Studien bewiesen, können unmittelbar nach dem Transport (0h) deutliche CM-Wertanstiege gemessen werden (Delezie et al., 2007; Rettenbacher et al., 2009). Neben dem Transport selbst (Delezie et al., 2007; Rettenbacher und Palme, 2009) haben weitere, im Zuge des Transportes unumgängliche Stressoren, wie zum Beispiel das Einfangen und Handling (Knowles und Broom, 1990), der Entzug von Futter und Wasser (Freeman et al., 1983) sowie der Mensch als betreuende Person (Hemsworth, 2003) einen Einfluss auf diesen Wert. Des Weiteren gilt es den Unterschied der Herden im Einzelnen zu berücksichtigen. Der sogenannte Durchgangseffekt liefert hierbei die Begründung, weshalb neben schematisierten Studien, die Bestätigung in der Praxis empfehlenswert ist.

Die vorliegende Studie zeigt bezüglich beider Transportvarianten Herden mit signifikant über dem Durchschnitt sowie signifikant unter dem Durchschnitt liegenden Werten in Hinsicht auf die CM-Basalwerte, CM-Werte nach dem Transport und dem Lebendtiergewicht. Ähnliche Studien vermitteln lediglich Anhaltspunkte zum Vergleich. Unterschiede zwischen weißen und braunen Hennen sind bekannt und können doch nicht in jeder Studie wiederholt bestätigt werden. Die vorliegende Untersuchung ist ein weiterer Beweis für die reale Existenz eines Unterschiedes zwischen diesen Linien, während zwei andere Studien, bezogen auf basale Kortikosteronwerte, keinen Unterschied feststellten (Cheng und Jefferson, 2008; Fraisse und Cockrem, 2006). Während Fraisse und Cockrem (2006) in ihrer Untersuchung bei in Käfig gehaltenen weißen Leghorn Hennen die braunen Highline Hennen gegenüberstellten, untersuchen Cheng und Jefferson (2008) Unterschiede zwischen weißen Leghorn und Dekalb XL. Beide verwendeten eine andere Methode zur Analyse von Kortikosteronen aus Plasma. Fraisse und Cockrem (2006) untersuchen zusätzlich CM aus Fäzes und verwendeten hier ebenfalls eine andere Methode als in der vorliegenden Studie. Die Autoren konnten für Plasma-Kortikosteronwerte beider Linien nach Transport keine Unterschiede erheben, wohl aber für fäkale CM-Werte. Dieses „Phänomen“ zeigt sich in unterschiedlichsten Studien und erschwert einen Vergleich zwischen den ohnehin rar vorhandenen Untersuchungen in Bezug auf den in dieser Studie untersuchten

Sachverhalt. Der bereits genannte Durchgangseffekt lässt spekulieren, dass die erwähnten Studien bei einer exakten Wiederholung nicht zu den gleichen Ergebnissen kommen könnten und bekräftigt die Empfehlung Studien zusätzlich in der Praxis zu bestätigen. Die vorliegende Studie zeigt entlang aller untersuchten Herden, dass die CM-Werte im Ruhezustand (Basalwerte, Anhang 3) und nach einer Stressbelastung (Transport, Anhang 4) zu fast jeder Zeit für HNS signifikant höher sind als für HNB. Sie schließt neben dem Durchgangseffekt eine Vielzahl weiterer Variablen ein, wie zum Beispiel unterschiedliche: Stallungen und Betreuung, Management (Licht, Futter), Transportdistanzen, Transportwagen, Chauffeure, Wetter, Temperaturen und Lokalisationen (Höhenmeter, Klima) und vermittelt doch für jede Herde ein ähnliches Bild.

Die Ergebnisse der Mensch-Tier-Beziehung zeigen anders als erwartet mit ansteigenden Kortikosteronwerten eine signifikante Zunahme an berührten Hennen. Logisch betrachtet erschließt sich nicht, weshalb es zu diesem Zusammenhang kommt, welcher in keinen anderen Studien beschrieben wird. Das Untersuchungsergebnis von Barnett et al. (1994) zeigt im Gegenteil, dass sich weniger Angst in niedrigeren CM-Wert äußert.

Entscheidend um eine Empfehlung für eine der beiden untersuchten Transportvarianten scheint einzig der unterschiedliche Gewichtsverlust beider Linien nach dem Transport zu sein. Zur Untersuchung eines Gewichtsverlustes wurden Einzeltiere vor und nach Transport gewogen. Wir konnten für beide Transportvarianten und beide Linien einen Verlust über den Transport hinweg messen. Wie vorangegangene Studien bestätigen, kann die Reduktion des Körpergewichts mit einem hohen Kortikosteronspiegel zusammenhängen (Gross et al., 1980; Post et al., 2003) sowie mit dem vorangegangenen Futterentzug (Delezie et al., 2007). Die Tiere, unter Einwirkung von Kortikosteron, nehmen weniger schnell zu als unbelastete Tiere (Delezie et al., 2007; El-Lethey et al., 2003; Weimer et al., 2018). Während HNB auf der Transportvariante über Nacht nicht signifikant mehr Gewicht verlieren, als auf der direkten Transportvariante, ist der Gewichtsverlust für HNS auf Transporten über Nacht signifikant höher als auf direkten Transporten (Anhang 5). Vermutlich besteht dieser Unterschied zwischen den Transportvarianten innerhalb der Linie HNS aufgrund ihrer höheren Empfindlichkeit gegenüber Belastungen und ihrer signifikant höheren Stressbelastung gegenüber HNB, wie unsere Untersuchungen ergaben. Dies führt

zu der Empfehlung, dass HNS Hennen von einem direkten Transport profitieren könnten, ohne jedoch zu wissen, wie sehr sie der Transport in der nachfolgenden Phase zum Beispiel bezüglich Futteraufnahme, Start in die Legephase oder Legeleistung, beeinflusst.





## 6 Zusammenfassung

Helena Sprafke

### **Untersuchung zweier Transportvarianten im Hinblick auf das Tierwohl bei ökologisch aufgezogenen Junghennen**

Das Thema der zugrundeliegenden Studie ist der Vergleich zwischen zwei Transportvarianten im Hinblick auf das Tierwohl bei ökologisch gehaltenen Junghennen. Es wurden 15 Junghennenherden bei ihrem Transport vom Aufzuchtbetrieb zum Legehennenbetrieb begleitet. Die Kistensitzzeit (Gesamte Zeit, die die Tiere in der Transportkiste verbringen. Beginnend mit der Ausstallung im Aufzucht- und endend mit der Einstallung im Legehennenbetrieb.) für Transporte über Nacht betrug durchschnittlich 13,5 Stunden und für direkte Transporte 5 Stunden. Insgesamt wurden 5751 Tiere beprobt, um den Gehalt an Kortikosteron-Metaboliten (CM) im Kot mittels Enzym-Immunoassays (EIA) zu messen. Individuelle Kotproben wurden vor dem Transport, zur Ermittlung der basalen CM-Werte sowie 0 h, 3 h, 6 h, 10 h, 24 h, 48 h, und 72 h nach Transport, zur Messung der Stressantwort, untersucht. Unter Berücksichtigung des zirkadianen Rhythmus wurden Herden, welche direkt transportiert wurden (Transportvariante I), zusätzlich 34 h und 58 h beprobt. Weitere 750 Junghennen wurden gewogen und insgesamt 600 wurden hinsichtlich ihrer Gesundheit (Gefiederzustand und Integument) vor und nach dem Transport bewertet. Das Verhalten bzw. die Mensch-Tier-Beziehung wurde einmalig vor dem Transport im Aufzuchtbetrieb mittels Touch-Test untersucht.

Insgesamt lagen die mittleren basalen CM-Werte für beide Varianten zwischen 43 und 66 ng/g. HNB Hennen hatten im Vergleich zu HNS Hennen signifikant niedrigere Basalwerte (Effekt: -37,8 95% KI: [-37,8; -30,3]). Der mittlere CM-Wert nach 0 h (die erste Probe nach Transportende) war mit 323 ng/g und 173 ng/g für "Transport über Nacht" und "direkter Transport" beziehungsweise mit 298 ng/g und 191 ng/g für HNS und HNB Hennen am höchsten. Der Gewichtsverlust während des Transports korrelierte signifikant (negativ) mit der Transportvariante. Hennen der Transportvariante I verloren 2.1 % Gewicht (95% KI: [-2,6; -1,5]). HNB hatten einen um 0,5 % (95% KI: [0,3; 0,7]) geringeren Gewichtsverlust als HNS. Die Bewertungsergebnisse für den Gefiederzustand unterschieden sich vor und nach

dem Transport kaum voneinander. Die Touch-Test Ergebnisse verbesserten sich mit ansteigendem CM-Basalwert.

Die Ergebnisse zeigen, dass Unterschiede innerhalb der CM-Werte und im Gewicht am stärksten zwischen den beiden bewerteten Junghennen-Linien und nicht zwischen den Transportvarianten auftreten. Es lässt sich daher vermuten, dass nicht alle Transportvarianten für alle Legelinien optimal sind. Weitere Untersuchungen zu diesem Thema sind notwendig.

## 7 Summary

Helena Sprafke

### **Investigation of two transport options with regard to animal welfare in ecologically reared pullets**

The subject of the underlying study is the comparison between two transport options with regard to animal welfare in ecologically reared pullets. Altogether 15 flocks were accompanied during their transport from the rearing farm to the farm of laying hens. The average „time in plastic crate“ for transports overnight was 13.5 h and for direct transports 5 h. A total of 5751 animals were sampled to measure the level of CM in the feces by EIA. Individual faeces samples were examined before transport to determine the basal CM values and 0 h, 3 h, 6 h, 10 h, 24 h, 48 h, and 72 h after transport to measure the stress response. Taking into account the circadian rhythm, directly transported flocks (transport variant II) were additionally sampled 24 h and 58 h after transportation. Another 750 pullets were weighed and 600 were evaluated for their health (plumage and integument) before and after transport. The birds' behavior was analyzed using the touch-test once before transportation.

Overall, baseline concentrations of excreted CM for both transport variants ranged from 43 to 66 ng/g. HNB hens had significantly lower basal values compared to HNS hens (effect: -37.8 95% CI: [-37.8, -30.3]). The mean CM value after 0 h (the first samples after the end of transport) was 323 ng/g and 173 ng/g for "overnight transport" and "direct transport" and 298 ng/g and 191 ng/g for HNS and HNB highest respectively. Weight loss during transportation was significantly correlated (negative) with the transport variant. Birds of variant "overnight transport" lost 2.1 % of their weight (95% KI: [-2,6; -1,5]). HNB hens had 0.5 % (95% KI: [0,3; 0,7]) higher loss in weight compared to HNS. Scoring results for plumage condition did not highly differ before and after transportation and touch test results improved with increasing CM basal value.

The results show that differences in CM values and weight occur most strongly between the two evaluated pullet lines and not between the transport variants. It can therefore be assumed that not all transport variants are optimal for all laying lines. Further research on this topic is necessary.



## 8 Literaturverzeichnis

KAGfreiland-Tierhaltungs-Richtlinien 2017, Schweiz, 2017; URL [https://www.kagfreiland.ch/images/BAUERN\\_PRODUKTE/Label/Infos\\_KAG-Bauern/KAG\\_RL2017.pdf](https://www.kagfreiland.ch/images/BAUERN_PRODUKTE/Label/Infos_KAG-Bauern/KAG_RL2017.pdf) (Datum des Zugriffs: 05.12.2017).

Agridea (2017): Tierwohl und Tiergesundheit. Schweizerische Vereinigung für die Entwicklung der Landwirtschaft und des ländlichen Raums; URL <https://www.agridea.ch/de/fachbereiche/fachbereiche/tierhaltung/tierwohl-und-tiergesundheit/> (Datum des Zugriffs: 16.10.2017).

Aviforum (2013): Haltungsformen in der CH-Eierproduktion. Aviforum; URL [http://alt.gefluegelzeitung.ch/downloads/FB\\_22\\_Haltungsformen\\_Eierproduktion\\_15.pdf](http://alt.gefluegelzeitung.ch/downloads/FB_22_Haltungsformen_Eierproduktion_15.pdf) (Datum des Zugriffs: 16.10.2017).

Aviforum (2017): Kükenstatistik und Produktionsprognose CH-Eier, bio und konventionell. Aviforum.

Axelrod J. und Reisine T. D. (1984): Stress hormones: Their interaction and regulation. Science 224: 452-459.

Bär M. (2011): Wer warum Bio kauft. Bioaktuell 1: 1-2.

Barnett J. L., Hemsworth P. H., Hennessy D. P., McCallum T. H., und Newman E. A. (1994): The effects of modifying the amount of human contact on behavioural, physiological and production responses of laying hens. Appl. Anim. Behav. Sci. 41: 87-100.

Bartov I., Jensen L. S., und Veltmann J. R. (1980): Effect of corticosterone and prolactin on fattening in broiler chicks. Poult. Sci. 59: 1328-1334.

Beuving G. und Vonder G. M. A. (1978): Effect of stressing factors on corticosterone levels in the plasma of laying hens. General and comparative endocrinology. Gen. Comp. Endocrinol. 35: 153-159.

Beuving G. und Vonder G. M. A. (1986): Comparison of the adrenal sensitivity to ACTH of laying hens with immobilization and plasma baseline levels of corticosterone. Gen. Comp. Endocrinol. 62: 353-358.

Bio Suisse (2017): Richtlinien für die Erzeugung, Verarbeitung und den Handel von Knospe-Produkten. Bio Suisse; URL [https://www.bio-suisse.ch/media/VundH/Regelwerk/2017/DE/rl\\_2017\\_d\\_gesamt\\_web\\_12.12.2016.pdf](https://www.bio-suisse.ch/media/VundH/Regelwerk/2017/DE/rl_2017_d_gesamt_web_12.12.2016.pdf) (Datum des Zugriffs: 17.10.2018).

Bio-Verordnung (1997): Verordnung über die biologische Landwirtschaft und die Kennzeichnung biologisch produzierter Erzeugnisse und Lebensmittel vom 22. September 1997 (Stand am 1. Januar 2015), AS **2009** 6317, Schweiz

BLV (2015): Fachinformation Tierschutz - Geflügektransport. Bundesamt für Lebensmittelsicherheit und Veterinärwesen; URL <https://www.blv.admin.ch/blv/de/home/tiere/transport-und-handel/tiertransporte/anforderungen.html> (Datum des Zugriffs: 17.09.2017).

BLV (2017): Kontrollunterlagen und –handbücher. Bundesamt für Lebensmittelsicherheit und Veterinärwesen; URL <https://www.blv.admin.ch/blv/de/home/tiere/rechts--und-vollzugsgrundlagen/hilfsmittel-und-vollzugsgrundlagen/kontrollhandbuecher.html> (Datum des Zugriffs: 17.09.2017).

Bundesamt für Landestopografie (2018); URL <https://map.geo.admin.ch> (Datum des Zugriffs: 25.08.2018)

Cannon W. B. (1929): Bodily changes in pain, hunger, fear and rage. New York, Appelton.

Carsia R. V. und Harvey S. (2000): Adrenals. Chapter 19. Surkie's Avian Physil. 501.

Cheng H. W. und Jefferson L. (2008): Different behavioral and physiological responses in two genetic lines of laying hens after transportation. Poult. Sci. 87: 885-892.

Cockrem J. F. (2007): Stress, corticosterone responses and avian personalities. Journ. of Ornithol. 148: 169-178.

Davis H. und Taylor A. (2001): Discrimination between individual humans by domestic fowl (*Gallus gallus domesticus*). Br. Poult. Sci. 42: 276-279.

Delezie E., Swennen Q., Buyse J., und Decuypere E. (2007): The Effect of Feed Withdrawal and Crating Density in Transit on Metabolism and Meat Quality of Broilers at Slaughter Weight. *Poult. Sci.* 86: 1414-1423.

Direktzahlungsverordnung (DZV): Verordnung über die Direktzahlungen an die Landwirtschaft vom 23. Oktober 2013 (Stand am 14. November 2017), AS **2013** 4145, Schweiz

Edens F. W. und Siegel H. S. (1975): Adrenal responses in high and low ACTH response lines of chickens during acute heat stress. *Gen. Comp. Endocrinol.* 25: 64-73.

El-Lethey H., Huber-Eicher B., und Jungi T. W. (2003): Exploration of stress-induced immunosuppression in chickens reveals both stress-resistant and stress-susceptible antigen responses. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 95: 91-101.

Forschungsinstitut für biologischen Landbau (FiBL): Bio in Europa legt weiter zu – Biomarkt wächst zweistellig, Biofläche steigt auf fast 14 Millionen Hektar an. Medienmitteilung vom 14. Februar 2018, Schweiz

Fraisse F. und Cockrem J. F. (2006): Corticosterone and fear behaviour in white and brown caged laying hens. *Br. Poult. Sci.* 47: 110-119.

Freeman B. M., Manning A. C. C., und Flack I. H. (1983): Adrenal cortical activity in the domestic fowl, *Gallus domesticus*, following withdrawal of water or food. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology* 74: 639-641.

Graml C., Waiblinger S., und Niebuhr K. (2008): Validation of tests for on-farm assessment of the hen–human relationship in non-cage systems. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 111: 301-310.

Gross W. B., Siegel P. B., und DuBose R. T. (1980): Some effects of feeding corticosterone to chickens. *Poult. Sci.* 59: 516-522.

Harvey S., Merry B. J., und Phillips J. G. (1980): Influence of stress on the secretion of corticosterone in the duck (*Anas platyrhynchos*). *Journal of Endocrinol.* 87: 161-171.

Höchstbestandesverordnung (HBV): Verordnung über Höchstbestände in der Fleisch- und Eierproduktion vom 23. Oktober 2013 (Stand am 1. Januar 2016), AS **2013** 3983, Schweiz



Heftmann E. und Mosettig E. (1961): Biochemistry of Steroids. Reinhold Publishing Corporation; New York.

Hemsworth P. H. (2003): Human–animal interactions in livestock production. Appl. Anim. Behav. Sci. 81: 185-198.

Hofer H. und East M. L. (1998): Biological conservation and stress. Advances in the Study of Behavior 27: 405-525.

Holmes W. N. und Phillips J. G. (1976): The adrenal cortex of birds. General, comparative and clinical endocrinology of the adrenal cortex 1: 293-420.

Hosberg AG (2017): Aufbau von Bio Elternerherden.

Jones R. B. (1994): Regular handling and the domestic chick's fear of human beings: generalisation of response. Appl. Anim. Behav. Sci. 42: 129-143.

Knowles T. G. und Broom D. M. (1990): The handling and transport of broilers and spent hens. Appl. Anim. Behav. Sci. 28: 75-91.

MEG Marktbilanz Eier und Geflügel (2018); URL <https://www.marktinfo-eier-gefluegel.de> (Datum des Zugriffs: 10.03.2019)

Mitchell M. A. und Kettlewell P. J. (2009): Welfare of poultry during transport—a review. In Poultry Welfare Symposium, pp. 90-100.

Munck A., Guyre P. M., und Holbrook N. J. (1984): Physiological functions of glucocorticoids in stress and their relation to pharmacological actions. Endocrine reviews 5: 25-44.

Murphy L. B. (1976): A study of the behavioural expression of fear and exploration in two stocks of domestic fowl. Study thesis. University of Edinburgh.

OIE (2017): Terrestrial Animal Health Code. World Organisation for Animal Health; URL <http://www.oie.int/international-standard-setting/terrestrial-code/> (Datum des Zugriffs: 19.10.2017).

Palme R., Touma C., Arias N., Dominchin M. F., und Lepschy M. (2013): Steroid extraction: Get the best out of faecal samples. Wien. Tierärztliche Monatsschr. 100: 238-246.

- Plotsky P. M. (1988): Hypophysiotropic regulation of stress-induced ACTH secretion. In *Mechanisms of Physical and Emotional Stress*, pp. 65-81. Springer.
- Post J., Rebel J. M., und Ter Huurne A. A. (2003): Physiological effects of elevated plasma corticosterone concentrations in broiler chickens. An alternative means by which to assess the physiological effects of stress. *Poult. Sci.* 82: 1313-1318.
- Raubek J. (2007): Untersuchungen zur Mensch-Tier-Beziehung auf Jung- und Legehennenbetrieben mit Boden- oder Freilandhaltung. Dissertation Thesis. Veterinärmedizinische Universität Wien.
- Rettenbacher S., Möstl E., Hackl R., Ghareeb K., und Palme R. (2004): Measurement of corticosterone metabolites in chicken droppings. *Br. Poult. Sci.* 45: 704-711.
- Rettenbacher S. und Palme R. (2009): Biological validation of a non-invasive method for stress assessment in chickens. *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.* 122: 8-12.
- Richtlinie 98/58/EG des Rates vom 20. Juli 1998 über den Schutz landwirtschaftlicher Nutztiere, Amtsblatt der Europäischen Gemeinschaft Nr. L 221/23 vom 08. August 1998
- Rue, H., Martino, S., & Chopin, N. (2009). Approximate Bayesian inference for latent Gaussian models by using integrated nested Laplace approximations. *J. Royal Stat. Soc: Series b (statistical methodology)*, 71(2), 319-392.
- Scheiber I. B. R., Kralj S., und Kotrschal K. (2005): Sampling effort/frequency necessary to infer individual acute stress responses from fecal analysis in greylag geese (*Anser anser*). *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1046: 154-167.
- Schwarzer A., Louton H., und Erhard M. H. (2015): Vorstellung Junghennenprojekt – Zur Bedeutung der Aufzucht der Junghennen. Tagung der DVG-Fachgruppen Tierschutz und Ethologie & Tierhaltung im Rahmen der DVG-Vet-Congress 12. bis 15. November 2015, Berlin.
- Selye H. (1937): Studies on adaptation. *Endocrinol.* 21: 169-188.
- Siegel H. S. (1980): Physiological stress in birds. *Biosci.* 30: 529-534.

Siegel H. S. und Latimer J. W. (1970): Bone and blood calcium responses to adrenocorticotropin, cortisol, and low environmental temperature in young chickens. Proc. World's Poult. Congr. Madrid, Spain 14: 453-463.

Sturkie P. D. und Lin Y. C. (1968): Sex difference in blood norepinephrine of chickens. Comp. Biochem. Physiol. B. 24: 1073-1075.

Tauson R., Kjaer J., Maria G. A., Cepero R., und Holm K. E. (2005): The creation of a common scoring system for the integument and health of laying hens. Applied scoring of integument and health in laying hens. Deliverables D.3.1, Work package 3, Health. LayWel.

Tierschutzgesetz (TSchG): vom 16. Dezember 2005 (Stand am 1. Mai 2017), AS **2008** 2965, Schweiz.

Tierschutzgesetz (TierSchG): in der Fassung der Bekanntmachung vom 18. Mai 2006 (BGBl. I S. 1206 ), das zuletzt durch Artikel 1 des Gesetztes am 12. Dezember 2018 (BGBl. I S. 2586) geändert worden ist, Deutschland

Tierschutzverordnung (TSchV): vom 23. April 2008 (Stand am 1. Mai 2017), AS **2008** 2979, Schweiz.

Verordnung des WBF (Eidgenössisches Departement für Wirtschaft, Bildung und Forschung) über die biologische Landwirtschaft: vom 22. September 1997 (Stand am 1. April 2018), AS **1997** 2519, Schweiz.

Weimer S. L., Wideman R. F., Scanes C. G., Mauromoustakos A., Christensen K. D., und Vizzier-Thaxton Y. (2018): An evaluation of methods for measuring stress in broiler chickens. Poult. Sci. 97: 3381–3389.

## 9 Anhang

### Anhang 1: Bonitierungsschema modifiziert nach Schwarzer et al. (2015)

Datum:	Betrieb:	HBN/HSN:								
Tier	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Gesamteindruck (0/1)										
Augenlider (0/1)										
Kamm (0/1)										
Kopf (0/1)										
Stresslinien (0/1)										
Gefieder (4 - 1)	4 = obB; 3 = 1 besch. Fed.; 2 = > 5 besch. Fed.; 1 = kahl > 1 cm									
Hals dorsal										
Rücken										
Flügeldecke										
Schwungfedern(0/1)										
Stoß (0/1)										
Hals ventral										
Brust										
Bauch										
Schenkel										
Verletzungen (0-2)	0 = obB; 1 = Ø ≤ 0,5 cm; 2 = Ø > 0,5 cm									
Hals dorsal										
Rücken										
Flügeldecke										
Schwungfedern										
Stoß										
Hals ventral										
Brust										
Bauch										
Schenkel										
Kloake										
Brustbein (4-2)										
Fußballen										
Hyperkeratose (0/1)										
Läsionen (4-1)										
Zehen										
Hyperkeratose (0/1)										
Läsionen (4-1)										
Milben am Tier (0/1)										

## Anhang 2: Fragebogen Aufzuchtbetriebe

### Erhebungsbogen Aufzucht Allgemeine Betriebsdaten und Management

<div style="border: 1px solid black; padding: 5px;"><p><b>Landwirt fragen - nach:</b></p><p><input type="checkbox"/> <b>Mortalitätsliste</b></p><p><input type="checkbox"/> <b>Gewichtsentwicklung</b> durchschnittliches Herdengewicht, Gewichts- einteilung und Gewichtsverteilung</p><p><input type="checkbox"/> <b>Tierärztliche Behandlungen</b></p><p><input type="checkbox"/> <b>Wasserverbrauch</b></p><p><input type="checkbox"/> <b>Futtermittelverbrauch</b></p><p><input type="checkbox"/> <b>Datenlogger</b></p><p><input type="checkbox"/> <b>Lichtprogramm</b></p><p><input type="checkbox"/> <b>Impfungen</b></p><p><input type="checkbox"/> <b>Bodenfedern</b></p><p><input type="checkbox"/> <u>Antrittsprotokoll</u></p><p><input type="checkbox"/> <u>Stallkarte</u></p><p><input type="checkbox"/> <u>Kükenpass</u></p></div>	<p>Erhebungsperson _____</p> <p>Schlupfdatum _____</p> <p>Erhebungsdatum _____</p> <p>Ort _____</p> <p>Anzahl Hühner</p> <p>SN _____</p> <p>BN _____</p>
--	---

#### I. Betriebs- und Arbeitsorganisation / Stallmanagement

1	Vorname _____	Nachname _____
2	Betreuungspersonal anwesend ?	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein
3	Hersteller / Typ	_____
4	Stallnummer/ Bezeichnung:	_____
5	Funktionsfähige Desinfektionswanne?	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein
6	Betreuer benutzt Desinfektionswanne?	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein
7	Betreuer benutzt eine Form der Schutzkleidung?	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein
8	Einmalschutzkleidung vorhanden?	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein
9	Benutzt?	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein
10	<b>Wetter am</b> <input type="checkbox"/> Sonne <input type="checkbox"/> Wind <input type="checkbox"/> Regen <input type="checkbox"/> Bedeckt	

*auszufüllen im Stall*

- 11 **Krankenabteil vorhanden?** ☐ ja ☐ nein  
Anzahl Hennen \_\_\_\_\_
- 12 **Schlechtwetterauslauf vorhanden?** ☐ ja ☐ nein
- 13 **Wie stark ist der Innenscharrraum frequentiert?** ☐ gering ☐ intensiv  
☐ mittel
- 14 **Plattenbildung im Scharrraum?** ☐ ja ☐ nein  
Plattengröße \_\_\_\_\_
- 15 **Beschäftigungsmaterial im Scharrraum?** ☐ ja ☐ nein  
☐ Strohballen ☐ Ytong ☐ Stroh ☐ Heu/Grass ☐ Sonstiges

- 16 **Wie stark ist der Freilandbereich frequentiert?** ☐ gering ☐ intensiv  
☐ mittel
- 17 **Weidezustand?** ☐ begrünt ☐ stark abgenutzt  
☐ leicht abgenutzt
- 18 **Bei Freilandhaltung – ist die Weide beschattet?**  
☐ < 10% ☐  
10-20% ☐  
Obstgarten/ > 30%
- 19 **Anzahl der Weiden?** \_\_\_\_\_
- 20 **Wechsel möglich?** ☐ ja ☐ nein

- 21 **Wie stark ist der Wintergarten frequentiert?** ☐ gering ☐ intensiv  
☐ mittel
- 22 **Beschäftigungsmaterial im Wintergarten?** ☐ ja ☐ nein  
☐ Strohballen ☐ Ytong ☐ Stroh ☐ Heu/Grass ☐ Sonstiges
- 23 **Plattenbildung im Wintergarten?** ☐ ja ☐ nein  
Plattengröße \_\_\_\_\_ **cm<sup>2</sup>**

- 24 **Tageslicht:** ☐ ja ☐ nein
- 25 **Sonnenflecken:** ☐ ja ☐ nein
- 26 **Wo landen die Sonnenflecken?**  
☐ Volliereebene ☐ Scharrraum
- 27 **Wandfarbe:** \_\_\_\_\_
- 28 **Wie werden die Fenster beschattet?** \_\_\_\_\_
- 29 **Farbe des Kunstlichtes:**  
☐ Rot ☐ Blau ☐ Grün ☐ Weiß ☐ Sonstiges
- 30 **Ausleuchtung des Stalls** ☐ gleichmäßig ☐ ungleichmäßig
- 31 **Luftqualität**  
☐ Gut ☐ Mittel ☐ Schlecht
- 32 **Ammoniak wahrnehmbar?** ☐ ja ☐ nein  
**Wo im Stall?** \_\_\_\_\_
- 33 **Staub (gefühl)**  
☐ gering ☐ mittel ☐ hoch

### III. Hennen

- 34 **Fliegen die Hennen beim Besuch auf?** ☐ ja ☐ nein
- 35 **Wird Erhebungsperson bepickt?** ☐ ja ☐ nein  
☐ durch Weiße ☐ durch Braune
- 36 **Bepicken sich die Hennen gegenseitig?** ☐ ja ☐ nein  
☐ Weiß auf Weiß ☐ Braun auf Braun
- 37 **Jagen Hennen sich gegenseitig?** ☐ ja ☐ nein  
☐ Weiß jagt Weiß ☐ Braun jagt Braun
- 38 **Deutliches Ausweichverhalten?** ☐ ja ☐ nein
- 39 **Kommen Hennen bei Einschalten der Fütterung an den Trog?** ☐ ja ☐ nein  
☐ keine Fütterung beobachtet
- 40 **Rote Vogelmilbe?** ☐ ja ☐ nein  
 Wo? \_\_\_\_\_
- 41 **Federn im Scharrraum?** ☐ ja ☐ nein

42 Kadaver im Stall?

☐ ja

☐ nein

---

43 Ursache?

---

44 Verletzte Hennen im Stall?

☐ ja

☐ nein

45 Hähne im Stall?

☐ ja

☐ nein

46 Zustand der Hähne

☐ gut ☐ mäßig ☐ schlecht

47 Legen die hennen bereits Eier?

☐ ja

☐ nein

Wie viele ca.? (Stk.)

---

**Bemerkungen:**

---

---

---

---

---

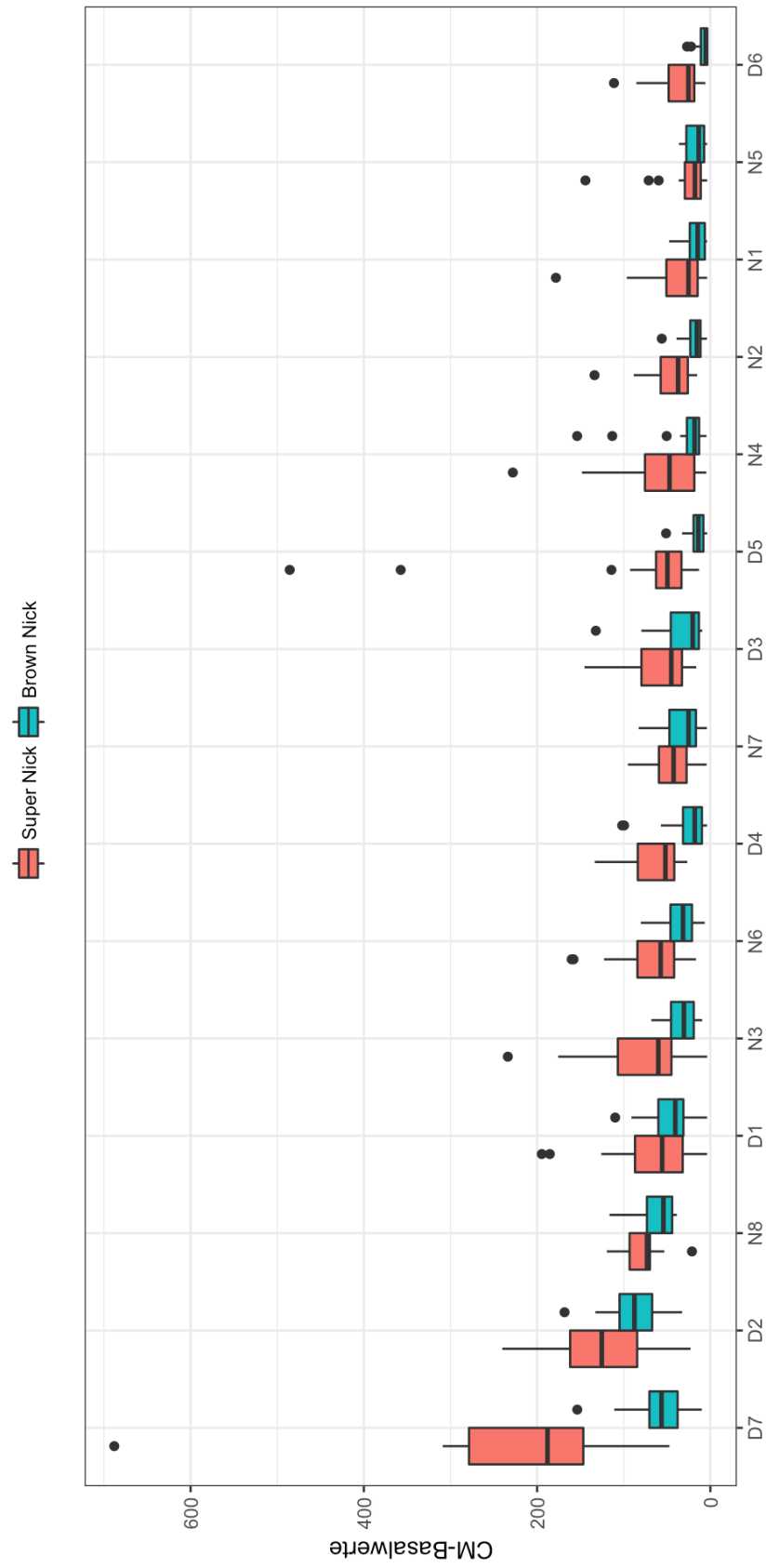
---

---

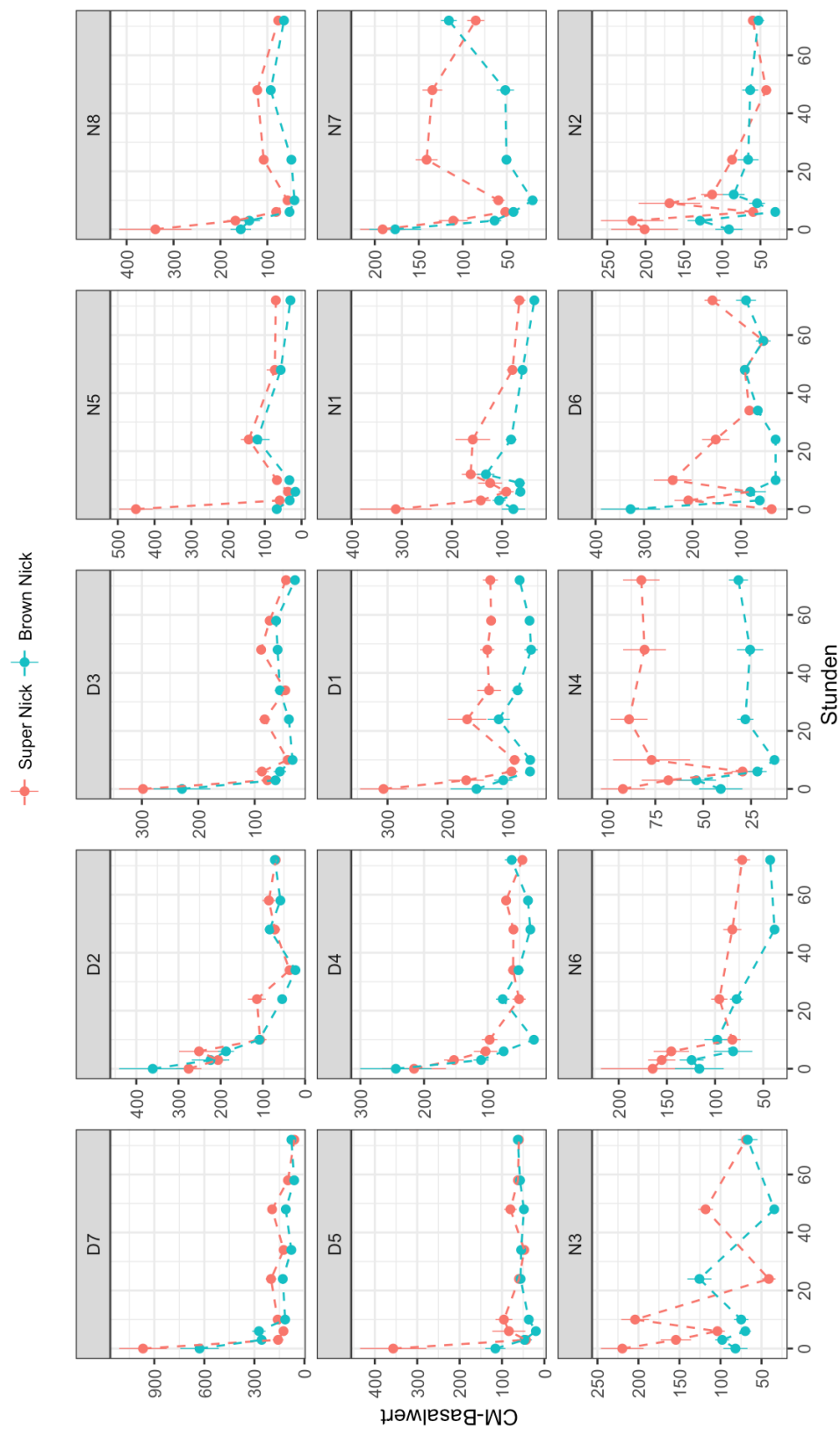
---



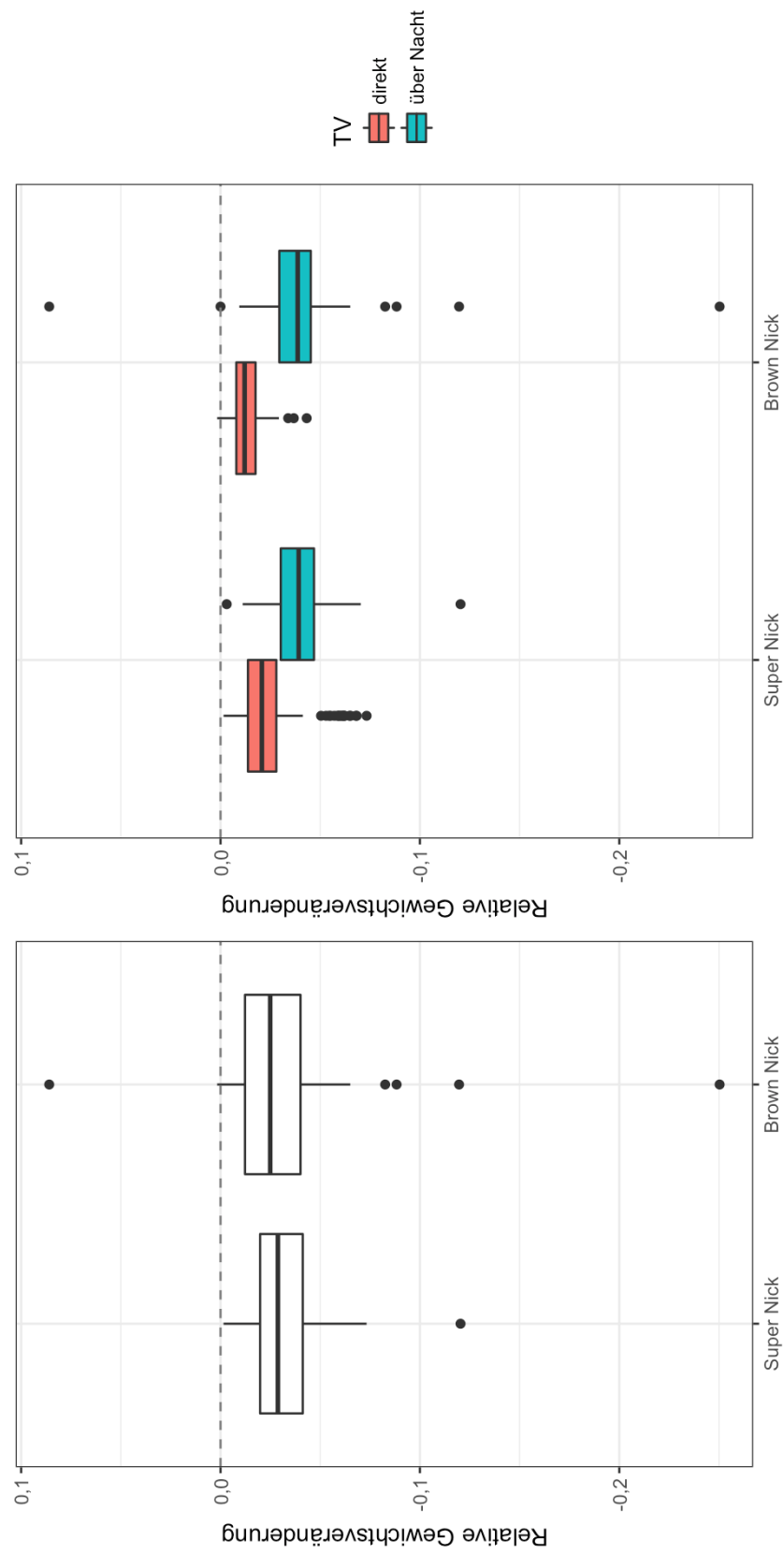
**Anhang 3:** Basalwerte (vor Transport) pro Herden mit Vergleich zwischen H&N Super Nick und H&N Brown Nick in Abhängigkeit der Transportvariante (D: Direkttransport; N: Transport über Nacht).



**Anhang 4:** CM-Werte nach Transport pro Herde mit Vergleich zwischen H&N Super Nick und H&N Brown Nick in Abhängigkeit der Transportvariante (D: Direkttransport; N: Transport über Nacht).



**Anhang 5:** Relative Gewichtsveränderung nach Transport mit Vergleich zwischen H&N Super Nick und H&N Brown Nick (links) im Vergleich mit Vergleich zwischen H&N Super Nick und H&N Brown Nick entlang der Transportvarianten (direkt und über



## **10 Danksagung**

Ich danke Herrn Professor Dr. Dr. Michael Erhard für die Annahme des Themas und seiner freundlichen Unterstützung sowie der Übernahme der Endkorrektur.

Mein besonderer Dank gilt Frau PD Dr. Shana Bergmann für ihre kompetente Betreuung der Arbeit, ihre Beratung und Unterstützung und ihren unzähligen Motivationsschüben von Anbeginn bis zur Veröffentlichung der Publikation und Fertigstellung der Dissertation.

Viel Dank gilt der gesamten hosberg AG für die Unterstützung während der Planung und Umsetzung des gesamten Projekts, speziell Joachim Mörl für seine zuverlässige und selbstlose Hilfe sowie Ruben Reinhard für die Mithilfe während der praktischen Umsetzung und dem fortwährend guten Austausch.

Den Unternehmen Prodavi AG und Wüthrich Brüterei AG und ihren Mitarbeitern danke ich für die gute Zusammenarbeit und die stets freundliche und tatkräftige Mithilfe.

Herrn Prof. Dr. Rupert Palme, der Veterinärmedizinischen Fakultät in Wien, danke ich für seine beratende Unterstützung bezüglich Probennahme und Probenanalyse während des Projektes sowie für die Zusammenarbeit zur Durchführung und Auswertung der Analysen an der Veterinärmedizinischen Universität Wien.

Für die kompetente und geduldige Beratung bezüglich der Statistik danke ich Herrn Dr. Paul Schmidt: „Statistische Beratung für Wissenschaft und Forschung“, Pfinztal, Deutschland

Dem Forschungszentrum für tiergerechte Haltung: Geflügel und Kaninchen in Zollikofen, Frau Dr. Sabine G. Gebhardt-Henrich, danke ich für den Verleih der für die Studie notwendigen Messgeräte.

Meiner Familie und meinen Freunden danke ich für ihre Geduld, ihr Verständnis, ihr Zuhören und ihre unzähligen motivierenden Worte.

Ein großer Dank gilt ebenfalls allen an der Untersuchung teilgenommenen Betrieben für ihre zuverlässige Unterstützung sowie allen nicht genannten Personen unterschiedlichster Unternehmen, Institute oder Einrichtungen, welche mir alle hilfsbereit und freundlich für jegliche Art von Fragen zur Verfügung standen.